

**UJI DAYA HAMBAT VCO YANG DISUPLEMENTASI METABOLIT BAL
TERHADAP BAKTERI PATOGEN**



Skripsi

Diajukan untuk Memenuhi Salah Satu Syarat Meraih Gelar Sarjana Sains
Jurusan Biologi pada Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar

Oleh:

DEVI ARMITA
NIM : 60300110009

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Mahasiswa yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Devi Armita
NIM : 60300110009
Tempat/Tgl. Lahir : Selayar/16 Agustus 1992
Jurusan : Biologi
Fakultas : Sains dan Teknologi
Alamat : Jln. Mamoa Raya No. 45
Judul : Uji Daya Hambat VCO Yang Disuplementasi Metabolit BAL terhadap Bakteri Patogen

Menyatakan dengan sesungguhnya dan penuh kesadaran bahwa skripsi ini benar adalah karya sendiri. Jika kemudian hari terbukti bahwa ia merupakan duplikat, tiruan, plagiat, atau dibuat oleh orang lain, sebagian atau seluruhnya, maka skripsi dan gelar yang diperoleh karenanya batal demi hukum.

Makassar, Februari 2014
Penyusun,

Devi Armita
NIM: 60300110009

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI ALAUDDIN MAKASSAR
2014

PENGESAHAN SKRIPSI

Skripsi yang berjudul, “Uji Daya Hambat VCO Yang Disuplementasi Metabolit BAL terhadap Bakteri Patogen”, yang disusun oleh Devi Armita, NIM: 60300110009, mahasiswa Jurusan Biologi pada Fakultas Sains dan Teknologi UIN Alauddin Makassar, telah diuji dan dipertahankan dalam sidang *munaqasyah* yang diselenggarakan pada hari Rabu, tanggal 19 Februari 2014, dinyatakan telah dapat diterima sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana dalam Ilmu Sains dan Teknologi, Jurusan Biologi (dengan beberapa perbaikan).

Makassar, 23 Februari 2014.

DEWAN PENGUJI:

Ketua	: Dr. Muh. Khalifah Mustami, M.Pd	(.....)
Sekretaris	: Mashuri Masri, S.Si., M.Kes	(.....)
Munaqisy I	: Dr. Muh. Khalifah Mustami, M.Pd	(.....)
Munaqisy II	: Cut Muthiadin, S.Si., M.Si	(.....)
Munaqisy III	: Muh. Rusydi Rasyid, M.Ag., M.Ed	(.....)
Pembimbing I	: Hafsani, S.Si., M.Pd	(.....)
Pembimbing II	: Fatmawati Nur, S.Si., M.Si	(.....)

Diketahui oleh:

Dekan Fakultas Sains dan Teknologi
UIN Alauddin Makassar,

Dr. Muh. Khalifah Mustami, M.Pd
NIP. 197104122000031001

KATA PENGANTAR

Segala puji bagi Allah SWT Tuhan semesta alam atas segala berkat, rahmat, taufik, serta hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul "Uji Daya Hambat *Virgin Coconut Oil* (VCO) Yang Disuplementasi dengan Metabolit BAL terhadap Bakteri Patogen". Skripsi ini disusun dalam rangka memperoleh gelar Sarjana Sains pada Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.

Melalui kesempatan yang sangat berharga ini penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Kedua orang tua, beserta seluruh keluarga besar atas kasih sayang dan pengorbananya selama ini. Selain itu, terima kasih juga kepada semua pihak yang telah membantu penyelesaian skripsi ini, terutama kepada yang terhormat:

1. Rektor Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar, Prof. Dr. H. A. Qadir Gassing HT., M.S beserta seluruh jajarannya.
2. Dekan Fakultas Sains dan Teknologi, Dr. Muh. Khalifah Mustami, M.Pd yang juga selaku Penguji I beserta seluruh jajarannya.
3. Ketua Jurusan Biologi, Fatmawati Nur, S.Si., M.Si yang juga selaku Pembimbing II atas saran dan bimbingannya selama ini.
4. Hafsan, S.Si., M.Pd selaku Pembimbing I atas saran dan bimbingannya.
5. Cut Muthiadin, S.Si., M.Si dan Muh. Rusydi Rasyid, S.Ag., M.Ag., M.Ed selaku Penguji II dan penguji III
6. Joharsan, S.Farm selaku Kepala Instalasi Mikrobiologi Balai Besar Laboratorium Kesehatan (BBLK) Makassar beserta seluruh jajarannya atas bimbingannya saat penelitian.
7. Seluruh dosen Jurusan Biologi yang selama ini telah mengajarkan dan mendidik selama proses perkuliahan serta staf Jurusan Biologi yang telah banyak membantu selama ini.
8. Sahabat-sahabatku Ana, Misa, Icha dan Hikmah atas dukungan dan perhatiannya selama ini.
9. Teman seperjuanganku dalam penelitian, Harlina yang telah banyak membantu penulis dalam penelitian
10. Teman-teman "OSMOSIS 2010" atas semangat, doa dan bantuannya selama ini.
11. Seluruh pihak yang telah banyak membantu penulis dalam seluruh rangkaian pengerjaan skripsi ini mulai dari awal hingga akhir.

Penulis menyadari bahwa di dalam skripsi ini masih terdapat banyak kekurangan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun sehingga dapat dijadikan dasar untuk perbaikan skripsi ini ke depannya. Akhir kata penulis berharap skripsi ini dapat memberikan wawasan dan pengetahuan kepada para pembaca pada umumnya dan penulis pada khususnya.

Makassar, Februari 2014

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI	ii
HALAMAN PENGESAHAN SKRIPSI	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR GRAFIK	x
ABSTRAK	xi
ABSTRACT	xii
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	6
C. Tujuan Penelitian	6
D. Manfaat Penelitian	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	8
A. Tinjauan Umum <i>Virgin Coconut Oil</i> (VCO)	8
B. Sifat Fisik dan Kimia <i>Virgin Coconut Oil</i> (VCO)	11
C. Pembuatan <i>Virgin Coconut Oil</i> (VCO)	14
D. Bakteri Patogen	19
E. Bakteri Asam Laktat	24
F. Metabolit Bakteri Asam Laktat	31
G. Aktivitas Antimikroba	34
H. Hipotesis	42
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	43
A. Jenis dan Rancangan Penelitian	43
B. Variabel Penelitian	44
C. Defenisi Operasional Variabel	44

D. Ruang Lingkup dan Batasan Penelitian	44
E. Alat dan Bahan	45
F. Prosedur Kerja	46
G. Analisis Data	49
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	50
A. Hasil Penelitian	50
B. Pembahasan	53
BAB V PENUTUP	64
A. Kesimpulan	64
B. Saran	65
DAFTAR PUSTAKA	66
LAMPIRAN-LAMPIRAN	72
DAFTAR RIWAYAT HIDUP	78

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1. Kandungan Asam Lemak VCO	12
Tabel 2.2. Ciri Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif	20
Tabel 4.1. Diameter zona hambat VCO, metabolit BAL serta VCO dan metabolit BAL terhadap <i>S. Thypi</i>	50
Tabel 4.2. Hasil uji hipotesis zona hambat VCO, metabolit BAL serta VCO dan metabolit BAL terhadap <i>S. Thypi</i> dengan menggunakan <i>Anova</i>	51
Tabel 4.3. Diameter zona hambat VCO, metabolit BAL serta VCO dan metabolit BAL terhadap <i>B. cereus</i>	52

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Pohon kelapa varietas kelapa dalam.....	9
Gambar 2.2. Penampang melintang buah kelapa	10
Gambar 2.3. Perbandingan struktur dinding sel bakteri Gram positif dan Gram negatif	20
Gambar 2.4. Elektron mikrograf <i>S. Thypi</i>	22
Gambar 2.5. Elektron mikrograf <i>B. cereus</i>	24
Gambar 2.6. Jalur katabolit bakteri asam laktat <i>homofermentatif</i>	27
Gambar 2.7. Proses pembentukan asam laktat	33
Gambar 3.1. <i>Layout</i> penelitian	43

DAFTAR GRAFIK

Grafik 4.1. Diameter zona hambat VCO, metabolit BAL serta VCO dan metabolit BAL terhadap <i>S. Thypi</i>	51
---	----

ABSTRAK

Nama Penyusun : Devi Armita
NIM : 60300110009
Judul Skripsi : “Uji Daya Hambat VCO Yang Disuplementasi Metabolit BAL terhadap Bakteri Patogen”

Virgin coconut oil (VCO) merupakan minyak yang berasal dari buah kelapa (*Cocos nucifera* L.) yang diolah tanpa proses pemasakan serta tanpa proses pemutihan dan hidrogenasi sehingga menghasilkan minyak murni. Asam-asam lemak yang terkandung di dalam VCO memiliki efek antibakteri, terutama asam laurat. Namun, aktivitas antibakteri dari asam lemak ini akan semakin meningkat jika dikombinasikan dengan zat lain. Salah satu zat yang dapat digunakan untuk meningkatkan efektivitas dari VCO yaitu metabolit yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat (BAL) yaitu antara lain asam-asam organik, terutama asam laktat. Efek sinergi antara asam-asam lemak yang terkandung pada VCO dan asam organik dari metabolit BAL disebabkan karena kedua senyawa tersebut memiliki kesamaan dalam sifatnya sebagai antibakteri.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh VCO, metabolit BAL serta campuran antara VCO dan metabolit BAL dalam menghambat pertumbuhan *Bacillus cereus* dan *Salmonella thypi*. Jenis penelitian yang dilakukan yaitu penelitian eksperimental dengan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) yang terdiri dari 6 perlakuan dengan 3 kali ulangan. Data yang diperoleh dianalisis secara statistik inferensial dengan menggunakan uji *One-Way Anova*. Uji daya hambat tiap-tiap sampel uji dilakukan dengan menggunakan metode *well-diffusion*. Hasil yang diperoleh memperlihatkan kemampuan daya hambat VCO, metabolit BAL serta campuran VCO dan metabolit BAL terhadap *S. Thypi* dengan hasil yang signifikan dan rata-rata diameter zona hambat yang terbentuk berkisar antara 11,17 mm hingga 14 mm. Sedangkan terhadap *B. cereus* tidak menunjukkan efek penghambatan. Berdasarkan penelitian ini, dapat dilakukan penelitian lanjutan terkait dengan pengaruh faktor lingkungan terhadap aktivitas antibakteri dari senyawa uji yang digunakan sehingga kinerja senyawa tersebut dapat ditingkatkan lagi.

Kata kunci : *Virgin Coconut Oil* (VCO), metabolit BAL, *Salmonella Thypi*, *Bacillus cereus*

ABSTRACT

Name : Devi Armita
NIM : 60300110009
Title : “Inhibition Test of VCO supplemented Metabolite of BAL for Pathogen Bacteria”

Virgin coconut oil (VCO) comes from coconut fruit (*Cocos nucifera* L.) which processed without ripening process, whitening process and hidrogenation to obtained pure oil. Fatty acids which consist in VCO have antibacterial effect, mainly lauric acid. In addition antibacterial activity from this fatty acid will significantly increase if combined with other substance. One of the substance able to be used to increase effectiveness of VCO is metabolite of *Lactic Acid Bacteria* (BAL) for example organic acids, mainly lactic acid. Synergistic effect between fatty acids of VCO and organic acid of BAL metabolites because both of compound have equality character as antibacterial.

The aims of this research was to find out the influence of *Virgin Coconut Oil* (VCO), metabolite of BAL, and the blend of VCO and Metabolite of BAL in obstructing the growth of *Bacillus cereus* and *Salmonella thypi*. This research is experimental design by using RAL with six treatment and three repetitions. Data obtained are analyzed with inferencial statistic with *One-Way Anova* test. Inhibition test one of sample by using *well-diffusion* method. The result shows the ability of VCO inhibition, metabolite of BAL and blend of VCO and metabolite of BAL toward *S. Thypi* with significant result and diameter average of inhibition formed are range 11,17 mm up to 14 mm. While to *B. cereus* not show resistance effect. Based on this research, can be conducted advanced researches related with influence of environmental factors to antibacterial activity of sample test is used in this research so performance of sample test as antibacterial can be improved again.

Key words : *Virgin Coconut Oil* (VCO), metabolite of BAL, *Salmonella Thypi*, *Bacillus cereus*

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Virgin coconut oil (VCO) merupakan minyak yang berasal dari buah kelapa (*Cocos nucifera* L.) tua segar yang diolah dan dimasak pada suhu rendah (<60°C) serta tanpa proses pemutihan dan hidrogenasi sehingga menghasilkan minyak murni. Proses tersebut membuat minyak ini dikenal dengan sebutan minyak perawan atau ada juga yang menamainya minyak dara (Gani, dkk., 2005: 6-7).

Menurut Gani, dkk (2005), VCO mengandung asam laurat yang tinggi. Lebih dari 51% kadar asam laurat yang terkandung di dalamnya. Asam laurat secara alami juga terkandung pula pada susu ibu dengan fungsi utama untuk memperkuat sistem kekebalan tubuh alami. Asam laurat merupakan asam lemak dengan rantai menengah (*medium chain saturated fatty acid* = MCSFA atau ada pula yang menyebutnya sebagai *medium chain fatty acid* = MCFA). Di dalam tubuh, asam laurat akan merubah bentuk menjadi monolaurin agar lebih berfungsi dalam menjaga kesehatan manusia (Wibowo, 2005: 23).

Monolaurin yang terkandung pada VCO mempunyai efek antibakteri yang dapat membunuh bakteri secara selektif. Bakteri yang diperlukan tubuh dan berada dalam usus tidak terpengaruh dengan efek antibakteri tersebut, namun sebaliknya untuk bakteri patogen (yang menyebabkan penyakit) mendapatkan dampak dari efek antibakteri yang dihasilkan oleh monolaurin. Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak terjadi inaktivasi bakteri yang umum dijumpai di usus yaitu *Eschericia coli* dan *Salmonella enteriditis*. Tetapi menunjukkan inaktivasi yang tinggi pada

Hemophilus influenzae dan *Staphylococcus epidermidis*. Mekanisme ini jelas-jelas selektif, namun belum ada penjelasan secara memadai tentang bagaimana mekanisme selektif ini bisa terjadi. Selain itu, bakteri patogen yang mampu diinaktivasi oleh monolaurin juga termasuk bakteri *Listeria monocytogenes*, *S. aureus*, *Gram positive organism*, dan beberapa *Gram negative organism* (Wibowo, 2005: 33).

Salah satu jenis bakteri yang juga diduga dapat dihambat pertumbuhannya oleh monolaurin yang terkandung di dalam VCO adalah *S. Typhi*. *S. Typhi* adalah bakteri Gram negatif berbentuk batang yang menyebabkan demam tifoid. *S. Typhi* merupakan salah satu penyebab infeksi tersering di daerah tropis, khususnya di tempat-tempat dengan higiene yang buruk (Hanna, dkk., 2005: 1). *S. Typhi* dapat menyebabkan gastroenteritis (keracunan makanan) dan septikemia. Penyakit ini dianggap serius karena dapat disertai berbagai penyakit, kejadian demam tifoid telah diperburuk dengan terjadinya peningkatan resistensi bakteri terhadap banyak antibiotik, meningkatnya jumlah individu yang terinfeksi HIV serta meningkatnya mobilitas pekerja migran dari daerah dengan insiden yang tinggi. Bakteri ini masuk melalui mulut bersama makanan dan minuman yang terkontaminasi oleh bakteri tersebut dan hanyut ke saluran pencernaan. Apabila bakteri berhasil mencapai usus halus dan masuk ke dalam tubuh mengakibatkan terjadinya demam tifoid (Darnawati, 2009: 28).

Selain *S. Typhi*, bakteri lain yang juga diduga dapat dihambat pertumbuhannya oleh monolaurin adalah *Bacillus cereus*. *B. cereus* digolongkan ke dalam kelas bakteri heterotrofik, yaitu protista yang bersifat uniseluler, termasuk dalam golongan mikroorganisme redusen atau yang lazim disebut sebagai dekomposer. Marga *Bacillus* merupakan bakteri yang berbentuk batang dapat

dijumpai di tanah dan air termasuk pada air laut. Beberapa jenis menghasilkan enzim ekstraseluler yang dapat menghidrolisis protein dan polisakarida kompleks. Membentuk endospora, merupakan Gram positif, bergerak dengan adanya flagel peritrikus, dapat bersifat aerobik atau fakultatif anaerobik serta bersifat katalase positif (Hatmanti, 2000: 32). Bahan pangan yang terkontaminasi *B. cereus* selain menimbulkan kerusakan pada bahan pangan juga dapat bersifat patogen pada manusia yaitu dapat menyebabkan septikimia dan meningitis dengan waktu inkubasi 0,5-5 jam (Asriani, 2006: 17).

Allah SWT berfirman dalam QS Abasa/ 80: 24 yaitu sebagai berikut:

فَلْيَنْظُرِ الْإِنْسَانُ إِلَى طَعَامِهِ ۚ

Terjemahnya:

“Maka hendaklah manusia itu memperhatikan makanannya” (Departemen Agama RI, 2009: 585).

Selain itu, Allah SWT juga berfirman dalam QS Al Maidah/ 5: 80 yaitu sebagai berikut:

يَأْتِيهَا النَّاسُ كُلُّوا مِمَّا فِي الْأَرْضِ حَلَالًا طَيِّبًا وَلَا تَتَّبِعُوا خُطُوَاتِ الشَّيْطَانِ إِنَّهُ لَكُمْ عَدُوٌّ مُبِينٌ

Terjemahnya:

Hai sekalian manusia, makanlah yang halal lagi baik dari apa yang terdapat di bumi, dan janganlah kamu mengikuti langkah-langkah syaitan; karena Sesungguhnya syaitan itu adalah musuh yang nyata bagimu (Departemen Agama RI, 2009: 121).

Berdasarkan hal tersebut dapat diketahui bahwa Allah SWT telah memberikan peringatan kepada hamba-Nya (manusia) untuk memperhatikan makanannya dan mengkonsumsi makanan yang halal serta baik karena makanan selain sebagai sumber nutrisi bagi manusia juga bisa menjadi sumber penyakit jika tidak

diperhatikan tingkat kebersihannya karena makanan bisa menjadi media bagi bakteri patogen seperti *B. cereus* dan *S. Thypi* yang merupakan agen penyebab *foodborne disease* untuk menginfeksi manusia.

Asam laurat (C-12) dari VCO memiliki aktivitas antibakteri terbesar dibandingkan semua asam lemak rantai menengah. Efek antibakteri dari asam lemak ini akan semakin meningkat jika asam lemak tersebut diesterifikasi sehingga terbentuk monolaurin. Monolaurin bekerja efektif terhadap bakteri patogen Gram positif dan bakteri yang berperan dalam proses pembusukan. Namun, aktivitas antibakteri dari asam lemak ini akan semakin meningkat jika dikombinasikan dengan zat lain (Batovska, dkk., 2009: 43).

Salah satu zat yang dapat digunakan untuk meningkatkan efektivitas dari VCO yaitu zat yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat (BAL). BAL merupakan bakteri anaerob fakultatif yang mampu hidup pada berbagai habitat yang cukup luas di alam seperti pada tanaman, saluran pencernaan baik hewan maupun manusia, berbagai produk makanan fermentasi seperti yogurt, minuman fermentasi, keju, saos, kedelai dan sake (Hutabarat, dkk., 2013). BAL mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen karena mampu memproduksi asam organik, menurunkan pH lingkungannya dan mengeksresikan senyawa yang mampu menghambat mikroorganisme patogen seperti H_2O_2 , diasetil, CO_2 , asetaldehid, d-isomer asam amino dan bakteriosin (Kusmiati dan Amarila, 2002: 2).

BAL dapat ditemukan secara alamiah pada berbagai jenis bahan pangan, diantaranya pada susu, daging segar dan sayur-sayuran dalam jumlah yang terbatas. Sebagaimana penelitian yang dilakukan oleh Desniar, dkk (2012) yang mengisolasi BAL dari bekasam dan menguji kemampuan daya hambat dari BAL tersebut terhadap

beberapa jenis bakteri patogen yaitu *E. coli*, *S. Typhimurium*, *B. cereus*, *S. aureus*, dan *L. monocytogenes*. Sedangkan penelitian yang dilakukan oleh Widiasih (2008) berhasil mengisolasi 12 isolat BAL dari daging sapi dan menguji kemampuan daya hambatnya terhadap *E. coli*, *S. aureus* dan *S. Typhimurium*. Selain itu, BAL dapat juga diisolasi dari unggas seperti penelitian yang dilakukan oleh Setiawan (2013) yang berhasil mengisolasi 8 isolat BAL dari usus itik dan diuji kemampuan daya hambatnya terhadap *S. Thypi*.

Metabolit BAL dapat digunakan untuk meningkatkan kemampuan VCO dalam menghambat pertumbuhan mikroba patogen, karena penggunaan campuran antara metabolit BAL dan VCO sebagai senyawa antimikroba akan menguntungkan karena dapat diperoleh senyawa antimikroba yang relatif aman serta mudah diperoleh dan secara organoleptik dapat diterima. Selain itu, berdasarkan penelitian yang dilakukan Oh dan Marshall (1994) yang menemukan penurunan jumlah sel *L. monocytogenes* sebesar 0,5 unit log yang diberi monolaurin sebesar 0,72 mL dan 1 unit log pada pemberian 1,44 mL asam laktat. Dan bila monolaurin dan asam laktat dicampur mampu menurunkan sebesar 2 unit log pada produk udang yang disimpan pada suhu 4°C selama penyimpanan 20 hari

Berdasarkan hal tersebut perlu dilakukan penelitian yang bertujuan untuk mengetahui efektivitas dari VCO dalam menghambat atau bahkan membunuh bakteri patogen terutama jika disuplementasi dengan metabolit dari BAL yang juga memiliki kemampuan daya hambat yang tinggi terhadap pertumbuhan bakteri patogen terutama *B. cereus* yang mewakili bakteri Gram positif dan *S. Thypi* yang mewakili bakteri Gram negatif.

B. Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Bagaimana daya hambat VCO terhadap pertumbuhan *S. Thypi* dan *B. cereus*?
2. Bagaimana daya hambat metabolit BAL terhadap pertumbuhan *S. Thypi* dan *B. cereus*?
3. Bagaimana daya hambat VCO yang disuplementasi dengan metabolit BAL terhadap pertumbuhan *S. Thypi* dan *B. cereus*?
4. Bagaimana perbedaan daya hambat VCO dan atau metabolit BAL terhadap pertumbuhan *S. Thypi* dan *B. cereus*?

C. Tujuan Penelitian

Adapun tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Untuk mengetahui daya hambat VCO terhadap pertumbuhan *S. Thypi* dan *B. cereus*.
2. Untuk mengetahui daya hambat metabolit BAL terhadap pertumbuhan *S. Thypi* dan *B. cereus*.
3. Untuk mengetahui daya hambat VCO yang disuplementasi dengan metabolit BAL terhadap pertumbuhan *S. Thypi* dan *B. cereus*.
4. Untuk mengetahui perbedaan daya hambat VCO dan atau metabolit BAL terhadap pertumbuhan *S. Thypi* dan *B. cereus*.

D. Manfaat Penelitian

Adapun manfaat yang dapat diperoleh dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Sebagai referensi mengenai tingkat efektivitas dari VCO yang disuplementasi dengan metabolit BAL dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen sehingga bisa dimanfaatkan sebagai zat antibakteri baru yang lebih efektif.
2. Sebagai bahan rujukan bagi penelitian selanjutnya yang memiliki relevansi dengan penelitian ini.
3. Sebagai sumber informasi tentang VCO sebagai zat antibakteri alami yang dapat dimanfaatkan oleh masyarakat.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Umum Virgin Coconut Oil (VCO)

Virgin coconut oil atau minyak VCO merupakan produk modern buah kelapa yang memiliki kemampuan meningkatkan taraf kesehatan, mengobati dan bahkan dimanfaatkan pula dalam bidang kosmetik. Sebagai produk modern yang dikembangkan dalam skala industri, pengembangan minyak VCO dari sisi sosial ekonomi juga memiliki keterkaitan erat dengan sikap hidup masyarakat, khususnya masyarakat petani produsen kelapa. Dengan demikian pengembangan industri VCO dan pemasarannya serta pemanfaatannya senantiasa melibatkan berbagai aspek yaitu aspek teknis pertanian, aspek ekonomi dan industri, aspek teknis kesehatan dan aspek budaya masyarakat yang telah lama menggantungkan hidup pada tanaman kelapa (Wibowo, 2005: 5).

Kelapa (*Cocos nucifera* L.) dikenal sebagai pohon “kehidupan” dengan daging buah yang dilapisi kulit tipis, dilindungi tempurung keras, sabut tebal dan kulit luar yang halus permukaannya. Kelapa merupakan pohon yang mempunyai berbagai kegunaan dan potensi serta mudah didapati di Filipina, Malaysia dan Indonesia (Hayati, 2009: 18). Di Indonesia, tanaman kelapa menyebar secara merata di seluruh pelosok tanah air, baik ditanam pada skala perkebunan besar maupun perkebunan rakyat. Sentra produksi kelapa di Indonesia tersebar di 10 propinsi, yaitu Provinsi Sulawesi Utara, Sulawesi Selatan, Maluku, Jawa Timur, Jawa Tengah, Jawa Barat, Lampung, Aceh, dan Sumatera Barat (Rukmana dan Herdi, 2004: 14-15). Kelapa dibagi ke dalam tiga kelompok yaitu (1) kelapa dalam dengan varietas *Viridis*

(kelapa hijau), *Rubescens* (kelapa merah), *Macrocorpu* (kelapa kelabu), *Sakarina* (kelapa manis), (2) kelapa genjah dengan varietas *Eburnea* (kelapa gading), varietas *Regia* (kelapa raja), *Pumila* (kelapa puyuh), *Pretiosa* (kelapa raja malabar), dan (3) kelapa hibrida (Anonim, 2013).



Gambar 2.1. Pohon kelapa varietas kelapa dalam (Sumber: <http://perkebunan.litbang.deptan.go.id>)

Kedudukan tanaman kelapa dalam sistematika (taksonomi) tumbuhan diklasifikasikan sebagai berikut:

Divisi : *Magnoliophyta*

Kelas : *Liliopsida (Monocotyledonae)*

Anak Kelas : *Arecidae*

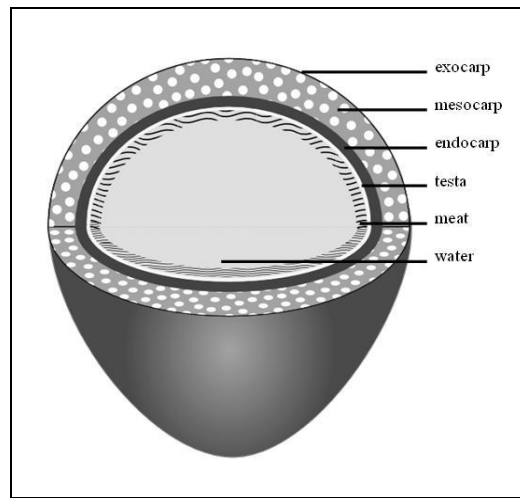
Ordo : *Arecales*

Famili : *Arecaceae(Palmae)*

Genus : *Cocos*

Spesies : *Cocos nucifera* L. (Syamsiah, 2012)

Buah kelapa berbentuk bulat panjang dengan ukuran kurang lebih sebesar kepala manusia. Buah terdiri dari sabut (*eksokarp* dan *mesokarp*), tempurung (*endokarp*), daging buah (*endosperm*) dan air buah. Tebal sabut kelapa ± 5 cm dan tebal daging buah 1 cm atau lebih (Ketaren, 2008: 310).



Gambar 2.2. Penampang melintang buah kelapa (Sumber: <http://www.wikipedia.com>).

VCO merupakan minyak yang paling sehat dan aman dibandingkan dengan minyak goreng golongan minyak sayur, seperti minyak jagung, minyak kedelai, minyak biji bunga matahari, dan minyak kanola. VCO mampu mendukung sistem kekebalan dengan membebaskan tubuh dari mikroorganisme berbahaya (Arif, 2005: 8).

Selain itu, menurut Gani, dkk (2005), VCO secara umum memiliki beberapa manfaat lain dalam bidang kesehatan yaitu antara lain:

- Memberantas virus HIV
- Mengurangi resiko arteriosklerosis
- Mengurangi resiko penyakit jantung

- Mencegah dan mengobati stroke
- Mengontrol diabetes
- Mengurangi resiko kanker
- Mencegah tekanan darah tinggi
- Mencegah sakit liver
- Mempermudah pengurangan berat badan akibat obesitas
- Mencegah osteoporosis
- Meredakan gejala sakit saluran kantung empedu

B. Sifat Fisik dan Kimia Virgin Coconut Oil (VCO)

VCO merupakan modifikasi proses pembuatan minyak kelapa sehingga dihasilkan produk dengan kadar air dan kadar asam lemak bebas yang rendah, berwarna bening, berbau harum, serta mempunyai daya simpan yang cukup lama yaitu lebih dari 12 bulan. Memiliki banyak keunggulan yaitu tidak membutuhkan biaya yang mahal karena bahan baku mudah didapat dengan harga yang murah, pengolahan yang sederhana dan tidak terlalu rumit, serta penggunaan energi yang minimal karena tidak menggunakan bahan bakar sehingga kandungan kimia dan nutrisinya tetap terjaga terutama asam lemak dalam minyak jika dibandingkan dengan minyak kelapa biasa atau sering disebut dengan minyak goreng (minyak kelapa kopra) (Cristianti dan Adi, 2008: 1-2).

Berbagai penelitian ilmiah beberapa tahun terakhir membuktikan bahwa VCO mengandung asam lemak jenuh yang unik dan berbeda dari asam lemak jenuh pada umumnya. Asam lemak jenuh dalam minyak kelapa adalah asam lemak jenuh rantai sedang dan pendek (Widiandani, dkk., 2010: 2). Kandungan VCO sendiri sebagian

besar terdiri atas *saturated fatty acids* (92% dari kandungan total), 6% *monounsaturated*, dan 2% *polyunsaturated fatty acids*. Dengan sangat sedikitnya *polyunsaturated fatty acids* (2%) dan karena minyak ini boleh dikata sudah jenuh, maka minyak ini sangat stabil dan tahan oksidasi sehingga sulit untuk menjadi tengik (*rancid*), dan merupakan minyak yang sempurna untuk memasak, menggoreng serta merupakan campuran salad. Karena sudah jenuh pula, maka VCO tidak perlu dihidrogenasi. Dengan demikian VCO sama sekali tidak mengandung *trans fatty acids* yang merupakan lemak berbahaya bagi tubuh. Diketahui pula bahwa minyak ini tidak akan melepaskan radikal bebas (*free radicals*) yang membahayakan tubuh karena minyak ini sulit teroksidasi (Wibowo, 2005: 9).

Asam lemak jenuh dan tak jenuh dengan jumlah atom karbon genap berantai lurus merupakan bagian terbesar dari asam lemak dalam lemak alam. Akan tetapi, sekarang diketahui bahwa banyak asam lemak lain mungkin ada dalam jumlah kecil. Beberapa dari asam tersebut meliputi asam berjumlah atom ganjil, asam rantai bercabang, dan asam hidroksi. Asam-asam ini dapat berada baik dalam lemak alam (produk yang terdapat di alam) maupun dalam lemak prosesan. Selain itu, lemak prosesan dapat mengandung berbagai asam lemak isomer yang biasanya tidak ditemukan dalam lemak alam (Deman, 1997: 43-44).

Tabel 2.1. Kandungan Asam Lemak VCO (Ketaren, 2004: 315)

Asam Lemak	Rumus Kimia	Jumlah (%)
Asam lemak Jenuh:		
1. Asam kaproat	$C_5H_{11}COOH$	0,0-0,8
2. Asam kaprilat	$C_7H_{17}COOH$	5,5-9,5
3. Asam kaprat	$C_9H_{19}COOH$	4,5-9,5
4. Asam laurat	$C_{11}H_{23}COOH$	44,0-52,0
5. Asam miristat	$C_{13}H_{27}COOH$	13,0-19,0
6. Asam palmitat	$C_{15}H_{31}COOH$	7,5-10,5
7. Asam stearat	$C_{17}H_{35}COOH$	1,0-3,0
8. Asam arachidat	$C_{19}H_{39}COOH$	0,0-0,4
Asam lemak tidak jenuh		
1. Asam palmitoleat	$C_{15}H_{29}COOH$	0,0-1,3
2. Asam oleat	$C_{17}H_{33}COOH$	5,0-8,0
3. Asam linoleat	$C_{17}H_{31}COOH$	1,5-2,5

Kandungan asam lemak jenuh minyak kelapa didominasi oleh asam laurat (44-52%) yang merupakan MCT. Asam laurat inilah yang menjadikan minyak kelapa menjadi unik, karena kebanyakan minyak tidak mengandung MCT. Keunikan ini membuat minyak kelapa berbeda dari semua minyak nabati lain dan mampu menambah kesehatan bagi tubuh. MCT dalam tubuh dipecah dan secara dominan digunakan untuk memproduksi energi dan jarang tersimpan sebagai lemak yang tumbuh atau menumpuk di pembuluh nadi. Karena asam lemak dari minyak kelapa menghasilkan energi, bukan lemak (Sukartin dan Maloedyn, 2005: 17).

Setiap kultivar kelapa memiliki karakteristik tersendiri, hal tersebutlah yang mampu menjelaskan variasi dalam persen komposisi asam lemak seperti asam laurat yang terkandung dalam minyak kelapa. Hal tersebut juga dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu lokasi (tempat) penanaman, varietas serta usia kelapa yang digunakan untuk produksi minyak kelapa, waktu tanam serta waktu panen turut pula

mempengaruhi kandungan asam lemak yang terdapat pada minyak kelapa (Carandang, 2008: 8).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Bolung, dkk (2013) untuk mengetahui mutu fisik dan kimia dari beberapa jenis VCO yang dibuat dari varietas kelapa yang berbeda, diperoleh hasil penelitian yang menunjukkan bahwa VCO yang dibuat dari varietas kelapa dalam memiliki kandungan asam laurat yang paling tinggi yaitu sebesar 47,39% sedangkan untuk VCO yang dibuat dari varietas kelapa hibrida memiliki kandungan asam laurat sebesar 42,16%. Berdasarkan syarat mutu yang dikeluarkan oleh Standar Nasional Indonesia (SNI), kandungan asam laurat VCO yang memenuhi persyaratan berkisar antara 45,1-53,2% (SNI, 2007). Sedangkan persentase asam laurat yang disyaratkan oleh *Asian and Pacific Coconut Community* (APCC) adalah sebesar 43,0-53,0% (Asy'ari dan Bambang, 2006: 3).

Minyak kelapa yang belum dimurnikan mengandung sejumlah kecil komponen bukan minyak, misalnya *fosfatida*, gum, sterol (0,06-0,08%), tokoferol (0,003%) dan asam lemak bebas (kurang dari 5%), sterol yang terdapat di dalam minyak nabati disebut phitosterol dan mempunyai dua isomer, yaitu beta sitosterol ($C_{29}H_{50}O$) dan stigmasterol ($C_{29}H_{48}O$). Sterol bersifat tidak berwarna, tidak berbau, stabil dan berfungsi sebagai *stabilizer* dalam minyak. Tokoferol mempunyai tiga isomer, yaitu α -tokoferol (titik cair 158° - $160^{\circ}C$), β -tokoferol (titik cair 138° - $140^{\circ}C$) dan γ -tokoferol. Persenyawaan tokoferol bersifat dapat disabunkan, dan berfungsi sebagai antioksidan. Warna cokelat pada minyak yang mengandung protein dan karbohidrat bukan disebabkan oleh zat warna alamiah, tetapi oleh reaksi *browning*. Warna ini merupakan hasil reaksi dari senyawa karbonil (berasal dari pemecahan peroksida) dengan asam amino dari protein, dan terjadi terutama pada suhu tinggi.

Warna pada minyak kelapa disebabkan oleh zat warna dan kotoran-kotoran lainnya. Zat warna alamiah yang terdapat pada minyak kelapa adalah *karotene* yang merupakan hidrokarbon tidak jenuh dan tidak stabil pada suhu tinggi. Pada pengolahan minyak menggunakan uap panas, maka warna kuning yang disebabkan oleh karotene akan mengalami degradasi (Ketaren, 2008: 314-315).

C. Pembuatan Virgin Coconut Oil (VCO)

VCO adalah minyak kelapa yang diproses dari kelapa segar dengan atau tanpa pemanasan dan tidak melalui pemurnian dengan bahan kimia. Dibandingkan dengan minyak kelapa yang diolah secara tradisional, VCO memiliki keunggulan yaitu kadar air dan asam lemak bebas rendah, tidak berwarna (bening), beraroma harum, dan daya simpan lebih lama. Dalam perkembangannya VCO telah dimanfaatkan sebagai bahan baku farmasi, kosmetik, dan pangan (Elfianus, 2008: 69).

Kandungan kimia yang paling utama (tinggi) dalam sebutir kelapa yaitu air, protein, dan lemak. Ketiga senyawa tersebut merupakan jenis emulsi dengan protein sebagai emulgatornya. Emulsi adalah cairan yang terbentuk dari campuran dua zat atau lebih yang sama, di mana zat yang satu terdapat dalam keadaan terpisah secara halus atau merata di dalam zat yang lain. Sementara yang dimaksud dengan emulgator adalah zat yang berfungsi untuk mempererat (memperkuat) emulsi tersebut. Dari ikatan tersebut protein akan mengikat butir-butir minyak kelapa dengan suatu lapisan tipis sehingga butir-butir minyak tidak akan bisa bergabung, demikian juga dengan air. Emulsi tersebut tidak akan pernah pecah karena masih ada tegangan muka protein air yang lebih kecil dari protein minyak. Minyak kelapa (VCO) baru bisa keluar jika ikatan emulsi tersebut dirusak (Cristianti dan Adi, 2009: 10-11).

Terdapat beberapa cara untuk mengekstraksi minyak dari daging buahnya, yaitu secara fisika, kimia, dan fermentasi. Proses tradisional melalui cara fisika (pemanasan) menghasilkan minyak dengan kualitas rendah karena kandungan airnya tinggi dan menyebabkan ketengikan. Ekstraksi minyak dengan cara kimia dapat menyebabkan penurunan kualitas beberapa unsur nutrisi penting, antara lain asam laurat dan tokoferol serta menyebabkan tingginya bilangan oksidasi. Sedangkan VCO hasil fermentasi (*fermikel*) memiliki banyak kelebihan di antaranya tahan lama, tidak mudah tengik dan hampir tanpa kandungan kolesterol. Kelebihan proses ekstraksi secara fermentasi dibandingkan cara lain adalah kemudahannya sehingga dapat diproduksi secara praktis, hemat bahan bakar, residu galendo lebih sedikit, tingkat ketengikan rendah dengan daya simpan lebih lama, aroma lebih harum, dan bebas senyawa penginduksi kolesterol (Soeka, dkk., 2008: 91).

Menurut Gani, dkk., (2006), untuk mendapatkan VCO berkualitas tinggi diperlukan ketelitian yang tinggi. Jika terjadi kesalahan dalam proses pembuatan akan menghasilkan minyak yang kualitasnya rendah. Kualitas VCO dipengaruhi oleh beberapa faktor. Adapun syarat VCO dapat dikatakan berkualitas tinggi yaitu:

- Terbuat dari buah kelapa segar
- Terbuat dari kelapa varietas asli, bukan kelapa hibrida
- Tanpa penyulingan
- Tanpa proses pemutihan (pemutih minyak)
- Tanpa melalui proses deodorisasi (penghilangan bau)
- Tanpa mengalami proses hidrogenasi
- Bebas dari bahan kimia tambahan
- Bebas dari mikroorganisme

- Kadar air kurang dari 0,1%
- Pemanasan kurang dari 60°C

Kualitas bahan (kelapa) yang digunakan akan sangat berpengaruh terhadap kualitas VCO yang dihasilkan, di samping juga dipengaruhi oleh proses produksi. Disamping itu, kualitas bahan yang digunakan juga berpengaruh terhadap rendemen VCO yang dihasilkan. Semakin baik mutu kelapa yang digunakan, kualitas VCO yang dihasilkan juga akan semakin baik, di samping juga rendemennya semakin tinggi, demikian sebaliknya. VCO dengan kualitas yang bagus dibuat dari varietas kelapa dalam karena rendemen yang diperoleh dari varietas ini akan lebih banyak dibandingkan dengan kelapa hibrida. Selain varietas, umur kelapa juga sangat menentukan kualitas VCO. Umur kelapa yang paling bagus digunakan untuk membuat VCO adalah kelapa yang tidak terlalu muda dan tidak terlalalu tua, yaitu berkisar antara 11-13 bulan. Karena apabila terlalu muda, kandungan minyaknya masih sangat rendah sehingga rendemen yang dihasilkan akan sedikit. Sebaliknya, bila kelapa yang digunakan sudah terlalu tua, banyak kandungan minyak yang sudah diubah menjadi karbohidrat. Dengan demikian, rendemen yang dihasilkan pun akan sedikit (Edahwati, 2011: 9).

Menurut Sukartin dan Maloedyn (2005), untuk menghasilkan minyak kelapa murni yang jernih, beraroma wangi, dan tahan lama hanya memerlukan sedikit pengalaman. Pada dasarnya pembuatan minyak kelapa murni dilakukan dengan tiga cara seperti berikut:

- Pemanasan

Proses pembuatan VCO dengan pemanasan hampir sama dengan cara membuat kelapa secara tradisional. Pertama kelapa dibuat santan dengan

mencampurkan 1 kg parutan kelapa dengan 2 L air. Santan tersebut kemudian didiamkan selama \pm 12 jam. Setelah didiamkan, santan akan terbagi menjadi tiga lapisan. Lapisan pertama disebut krim (*kanil-Jawa*), lapisan kedua skim yang berupa protein, dan lapisan ketiga berupa air. Lapisan atas yang berupa krim diambil dengan cara disendok supaya tidak bercampur dengan larutan lapis kedua. Pengambilan krim juga bisa dilakukan dengan menyedotnya menggunakan selang kecil. Selanjutnya krim tersebut dipanaskan supaya terbentuk minyak.

- Fermentasi

Pembuatan minyak kelapa dengan fermentasi dilakukan dengan cara mencampur krim yang diperoleh dengan enzim untuk memecahkan emulsi. Enzim yang digunakan diantaranya enzim mikroba atau ragi dari *Saccharomyces cerevisiae*. Bisa juga menggunakan enzim pemecah emulsi lainnya, seperti poligalakturonase, amilase, atau pektinase.

- Minyak pancingan

Dengan teknik pancingan, molekul minyak dalam santan ditarik oleh minyak pancing sampai akhirnya menjadi minyak semuanya. Tarikan itu akan mengubah air dan protein yang sebelumnya terikat dengan molekul santan menjadi terputus. Teknik ini pada dasarnya mengubah bentuk emulsi minyak-air menjadi minyak-minyak.

Selain ketiga cara pengolahan VCO tersebut, terdapat satu cara (metode) pengolahan VCO yang lain yaitu pengolahan VCO melalui proses pendinginan. Proses pendinginan terdiri atas dua cara pembuatan yaitu metode *mixing* dan sentrifugasi. Kelebihan proses pendinginan adalah waktu yang singkat untuk membuat minyak, rasa minyak manis, aroma segar seperti air kelapa muda. Kelebihan proses dengan sentrifugasi adalah lapisan air mempunyai rasa manis

sehingga bisa digunakan sebagai minuman. Blondo dapat dimanfaatkan untuk makanan lain. Minyak yang dihasilkan dari proses sentrifugasi dinamakan *extra virgin coconut oil* (Gani, dkk., 2006, 11-12). Kunci dari pembuatan VCO dengan sentrifugasi yaitu kecepatan pemutaran, yaitu 20.000 rpm. Disamping itu faktor waktu juga ternyata menjadi pembatas dalam pemutaran tersebut. Waktu yang dibutuhkan untuk memutus ikatan lemak protein dari santan dengan kecepatan 20.000 rpm yaitu sekitar 15 menit (Cristianti dan Adi, 2009: 13).

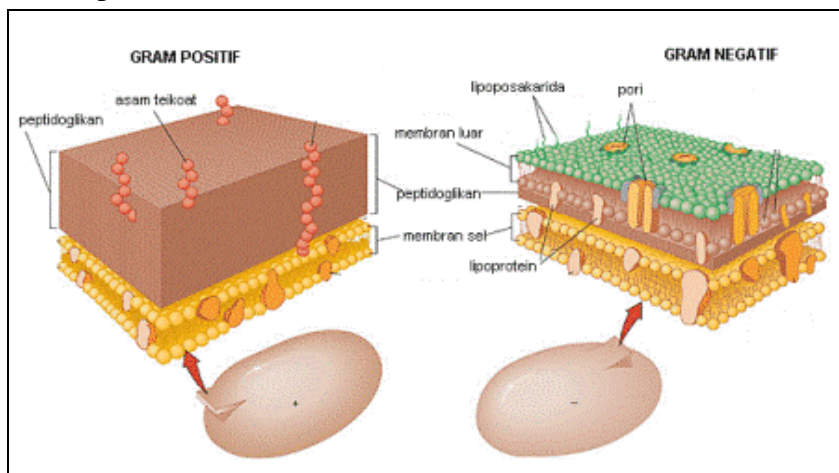
D. Bakteri Patogen

Pada dasarnya dari seluruh mikroorganisme yang terdapat di alam hanya sebagian kecil saja yang merupakan patogen maupun potensial patogen. Patogen adalah organisme (umumnya berupa mikroorganisme) yang menyebabkan penyakit pada organisme lain (Pratiwi, 2008: 174). Semua organisme yang diketahui dapat menimbulkan penyakit merupakan kelompok yang sangat bervariasi dalam sifat biologis, ukuran, dan kemajemukan strukturnya. Menurut ukuran dan kerumitan strukturnya, yang terbesar di antaranya golongan *helminthes* (cacing) yaitu invertebrata berukuran besar; yang terkecil golongan virus, hanya berupa partikel semata (mirip molekul). Di antara kedua kelompok ini terdapat mikroorganisme sebenarnya, terdiri atas bakteri, protozoa, dan fungi (jamur) (Tambayong, 2000: 1).

Bakteri merupakan salah satu mikroba yang tergolong prokariotik, yaitu suatu struktur sel yang tidak mempunyai inti sejati (inti yang tidak dikelilingi oleh membran inti). Sedangkan komponen genetisnya terdapat di dalam molekul DNA

tunggal yang letaknya bebas di dalam sitoplasma (Hafsan, 2011: 11). Terdapat dua kelompok berbeda dari organisme prokariotik, yaitu eubakteria dan archaeobakteria. Eubakteria terdiri dari bakteri-bakteri yang lebih umum, seperti kebanyakan orang telah mengenalnya sedangkan Archaeobakteria adalah kelompok bakteri yang tidak memproduksi peptidoglikan yang merupakan pembeda utama antara archaeobakteria dan tipe eubakteria (Brooks, dkk., 2005: 59).

Berdasarkan perbedaan dinding selnya yang didasarkan dengan pengecatan Gram, bakteri dibedakan menjadi dua macam yaitu bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif. Bakteri Gram positif memiliki dinding sel yang lebih sederhana, dengan jumlah peptidoglikan yang relatif banyak sedangkan dinding sel bakteri Gram negatif memiliki peptidoglikan yang lebih sedikit dan secara struktural lebih kompleks (Campbell, dkk., 2003: 107).



Gambar 2.3. Perbandingan struktur dinding sel bakteri Gram positif dan Gram negatif (Sumber: <http://biobakteri.files.wordpress.com>).

Perbedaan antara bakteri Gram positif dan Gram negatif secara lengkap dapat dilihat pada tabel di bawah ini.

Tabel 2.2. Ciri Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif (Pelczar dan Chan, 2008: 117)

Ciri	Perbedaan Relatif	
	Gram Positif	Gram Negatif
Struktur dinding sel	Tebal (15-80 nm)	Tipis (10-15 nm)
	Berlapis tunggal (mono)	Berlapis tiga (multi)
Komposisi dinding sel	Kandungan lipid rendah (1-4%)	Kandungan lipid tinggi (11-22%)
	Peptidoglikan ada sebagai lapisan tunggal; komponen utama merupakan lebih dari 50% berat kering beberapa sel bakteri	Peptidoglikan ada di dalam lapisan kaku sebelah dalam; jumlahnya sedikit, merupakan sekitar 10% berat kering
	Asam teikoat	Tidak ada asam teikoat
Kerentanan terhadap penisilin	Lebih rentan	Kurang rentan
Pertumbuhan dihambat oleh zat-zat warna dasar, misalnya ungu kristal	Pertumbuhan dihambat dengan nyata	Pertumbuhan tidak begitu dihambat
Persyaratan nutrisi	Relatif rumit pada banyak spesies	Relatif sederhana
Resistensi terhadap gangguan fisik	Lebih resisten	Kurang resisten

Bakteri patogen dapat memasuki tubuh inang melalui berbagai macam jalan, misalnya melalui membran mukosa, kulit ataupun rute parenteral. Banyak bakteri yang memiliki akses memasuki tubuh inang melalui membran mukosa, saluran *gastrointestinal*, saluran *genitourinaria*, *konjungtiva*, serta membran penting yang menutupi bola mata dan kelopak mata. Bakteri dapat memasuki saluran pencernaan

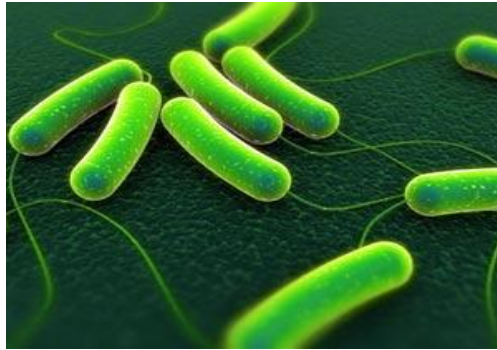
melalui bahan makanan atau minuman dan melalui jari tangan yang terkontaminasi bakteri patogen (Pratiwi, 2008: 176).

Pertumbuhan bakteri patogen di dalam atau pada makanan dapat mengakibatkan berbagai perubahan fisik maupun kimiawi yang tidak diinginkan, sehingga bahan pangan tersebut tidak layak untuk dikonsumsi. Akhir-akhir ini terjadi peningkatan gangguan saluran pencernaan (*gastrointestinal*) akibat keracunan bahan pangan yang disebarkan oleh bakteri patogen yang termakan bersama bahan pangan yang tercemar. Sebagai akibat dari meningkatnya perjalanan dan perdagangan secara internasional, maka penyakit yang disebabkan oleh bahan pangan dan keamanan bahan pangan dari mikroorganisme telah menjadi perhatian utama dunia (Buckle, dkk., 2009: 23-24).

Adapun contoh bakteri patogen yang seringkali menginfeksi melalui bahan pangan yaitu *S. Typhi* dan *B. cereus*.

- *S. Typhi*

S. Typhi disebut juga *S. choleraeszlis serovar Typhi*, *S. serovar Typhi*, *S. enterica serovar Typhi*. *S. Typhi* adalah strain bakteri yang menyebabkan terjadinya demam tifoid. Merupakan bakteri yang selnya berbentuk batang berukuran 0,7-1,5 μm x 2,0-5,0 μm , bersifat Gram negatif sehingga mempunyai komponen *outer layer* (lapisan luar) yang tersusun dari LPS (lipopolisakarida) dan dapat berfungsi sebagai endotoksin, bergerak dengan flagel peritrik, tidak membentuk spora. Pada media *Mac Conkey* koloni transparan karena bakteri tidak memfermentasikan laktosa, dengan diameter koloni 2-4 mm. *S. Typhi* adalah bakteri yang berdasarkan kebutuhan oksigen bersifat fakultatif anaerob, membutuhkan suhu optimal 37°C untuk pertumbuhannya (Darnawati, 2009: 29).



Gambar 2.4. Elektron mikrograf *S. Typhi* (Sumber: <http://salmonellatyphi.org>)

Terinfeksi manusia oleh *Salmonella* hampir selalu disebabkan karena mengonsumsi makanan atau minuman tercemar. Makanan yang biasanya tercemar meliputi kue-kue yang mengandung saus susu, daging cincang, sosis unggas, daging panggang yang diperdagangkan, dan telur. Walaupun penular dan orang sakit dapat mencemari makanan dan minuman, sumber Salmonellosis terbesar yang merupakan gudang *Salmonella* ialah hewan tingkat rendah (Irianto, 2007: 96).

Salmonella penyebab gastroenteritis ditandai oleh gejala-gejala yang umumnya nampak 12-36 jam setelah makan bahan pangan yang tercemar. Gejala tersebut adalah berak-berak (*diarrhea*), sakit kepala, muntah-muntah dan demam dan dapat berakhir selama 1-7 hari. Tingkat kematian kurang dari 1%, tetapi jumlah ini meningkat pada anak-anak, orang tua atau orang dengan imunitas lemah (Buckle, dkk., 2009: 76)

- *B. cereus*

Pada 1887, Frankland dan Frankland melaporkan hasil penelitian mengenai *B. cereus* yang pertama kali. *B. cereus* mempunyai ukuran sel yang besar, yaitu 1,0-1,2 mm dengan panjang 3,0-5,0 mm, bersifat anaerobik fakultatif, dan membentuk spora. Sporangya tidak membengkak, berbentuk elips, dan terletak sentris atau agak ke tengah sel. *B. cereus* membentuk koloni yang spesifik bila ditumbuhkan pada agar

darah (*Horse Blood Agar*), pada suhu 35°-37°C. Selama 48 jam akan membentuk koloni yang mempunyai ukuran besar (4-7 mm) dengan permukaan datar dan berwarna kehijauan. Koloni tersebut biasanya menunjukkan sifat α -hemolitik, tetapi beberapa strain membentuk β -hemolitik. Pada keadaan anaerobik, koloni berbentuk kecil dan transkulen dengan diameter 2-3 mm, dikelilingi oleh areal bersifat β -hemolitik yang menyerupai koloni *Clostridium perfringens*, hanya bedanya bagian tepinya tidak rata (Supardi dan Sukanto, 1999: 130).

B. cereus merupakan bakteri yang mampu membentuk endospora. Pembentukan endospora bagi bakteri sangat penting, karena struktur endospora yang tebal dapat berfungsi sebagai pelindung panas (Dewi, 2010: 11). Spora *B. cereus* umumnya mempunyai nilai D_{100} selama 2,7-3,1 menit di dalam susu skim, dan 5 menit di dalam makanan berasam rendah (pH lebih dari 4,5). Di dalam buffer fosfat pada pH 7,0 nilai D dari sporanya pada suhu 85, 90, 95, dan 100°C berturut-turut adalah 220, 71, 13, dan 88 menit (Supardi dan Sukanto, 1999: 131).

Sifat-sifat lain dari *B. cereus* adalah tidak memproduksi indol, reaksi Voges-proskauer positif, dapat menggunakan sitrat sebagai sumber karbon, mereduksi nitrat, tidak memproduksi urease dan penisilinase, dapat tumbuh secara anaerobik di dalam media cair yang mengandung 1% glukosa, memproduksi asam dari glukosa, sukrosa, maltosa, trehalosa, dan gliserol, serta tahan terhadap lysosyme (Supardi dan Sukanto, 1999: 131). Survei tentang kejadian yang sehubungan dengan organisme ini dalam bahan pangan menunjukkan suatu frekuensi yang tinggi pada bahan pangan kering seperti sereal, rempah-rempah dan susu bubuk (tepung susu). Susu yang sudah dipasteurisasi dapat juga mengandung *B. cereus* (Buckle, dkk., 2009: 80).

Enterotoksin dari *B. cereus* menyebabkan gejala muntah dan diare, dengan gejala muntah lebih dominan. Gejala dapat ditemukan pada 1-6 jam setelah asupan makanan terkontaminasi, dan masa berlangsungnya penyakit kurang dari 24 jam. Gejala mual akut, muntah, dan nyeri abdomen yang sering kali berakhir setelah 10 jam. Gejala diare terjadi pada 8-16 jam setelah asupan makanan terkontaminasi dengan gejala diare dan kejang abdomen (Meilisa, 2009).



Gambar 2.5. Elektron mikrograf *B. cereus* (Sumber: <http://www.dijitalimaj.com>)

E. Bakteri Asam Laktat

Bakteri asam laktat (BAL) adalah kelompok bakteri Gram positif yang disatukan oleh beberapa karakter seperti karakter morfologi, metabolisme dan fisiologi. Secara umum, deskripsi dari bakteri asam laktat adalah bakteri Gram positif yang tidak membentuk spora dan berbentuk bulat atau batang serta menghasilkan asam laktat sebagai produk akhir utamanya pada fermentasi karbohidrat. Bakteri asam laktat juga mempunyai sifat-sifat antara lain tidak motil, memberikan reaksi katalase negatif, pertumbuhan aerob atau mikroaerofil, merupakan bakteri mesofil dengan suhu optimum pertumbuhan 20-40°C (Simanjuntak, 2010: 44).

Allah SWT berfirman dalam QS An Nahl/ 16: 13 yaitu:

وَمَا ذَرَأَّا لَكُمْ فِي الْأَرْضِ مُخْتَلِفًا أَلْوَانُهُ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً لِّقَوْمٍ
يَذْكُرُونَ

Terjemahnya:

Dan Dia (menundukkan pula) apa yang Dia ciptakan untuk kamu di bumi ini dengan berlain-lainan macamnya. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda (kekuasaan Allah) bagi kaum yang mengambil pelajaran (Departemen Agama RI, 2009: 268).

Berdasarkan ayat tersebut dapat diketahui bahwa Allah SWT telah menciptakan berbagai macam makhluk di dunia ini, mulai dari yang bisa dilihat dengan mata hingga yang kasat mata (hanya bisa dilihat dengan menggunakan mikroskop) termasuk bakteri asam laktat yang dapat berperan sebagai antimikroba sehingga sangat bermanfaat bagi kehidupan manusia. Dan hal tersebut merupakan salah satu tanda kekuasaan Allah SWT sehingga manusia bisa mengambil pelajaran di dalamnya.

BAL merupakan salah satu organisme yang memfermentasi bahan pangan melalui fermentasi karbohidrat dan umumnya menghasilkan sejumlah besar asam laktat. Bakteri ini memberikan kontribusi yang cukup besar terhadap perbaikan flavour, tekstur, dan masa simpan produk fermentasi. BAL mempunyai distribusi yang luas dan kemampuan tumbuh pada berbagai substrat organik dan kondisi seperti kondisi asam, basa, suhu rendah, suhu tinggi, kadar garam tinggi, anaerob, sehingga menjadikan BAL sebagai kompetitor yang tangguh di semua sektor pengolahan pangan (Yuliana, 2008: 108). BAL dengan status GRAS-*generally regarded as safe* sangat penting secara komersial dalam pengolahan bahan makanan dan telah secara ekstensif telah digunakan di berbagai sektor industri makanan seperti susu, daging

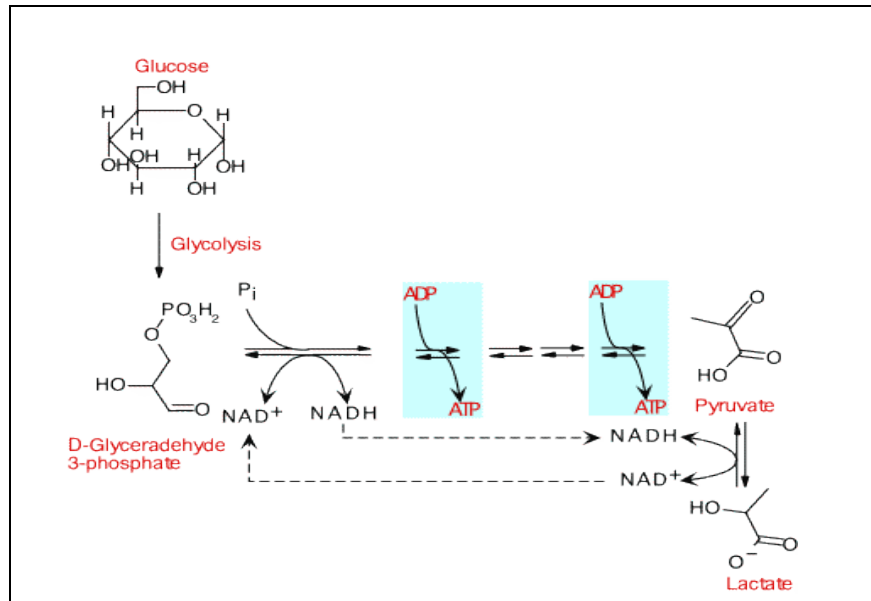
dan sayur-sayuran yang difermentasi (Zareian, dkk., 2013). Peran utama bakteri ini dalam industri makanan adalah untuk pengasam bahan mentah dengan memproduksi sebagian besar asam laktat (Nur, 2005: 16). Asam laktat digunakan untuk mengawetkan makanan pada industri penyamakan kulit dan industri tekstil (Pratiwi, 2008: 215).

Selain itu, BAL juga berpotensi memberikan dampak positif bagi kesehatan dan nutrisi manusia, beberapa di antaranya yaitu meningkatkan nilai nutrisi makanan, mengontrol infeksi pada usus, meningkatkan digesti (pencernaan) laktosa, mengendalikan beberapa tipe kanker, dan mengendalikan tingkat serum kolesterol dalam darah. Sebagian keuntungan tersebut merupakan hasil dari pertumbuhan dan aksi bakteri selama pengolahan makanan, sedangkan sebagian lainnya hasil dari pertumbuhan beberapa BAL di dalam saluran usus saat mencerna makanan yang mengandung BAL sendiri (Rustan, 2013).

BAL merupakan sumber kimiawi yang baik dengan kepentingan teknologi dan fungsional, membentuk suatu kelompok mikroorganisme yang sangat penting secara industri dan dengan status aman. Pengetahuan dasar tentang produk-produk hasil fermentasi dari BAL serta kemungkinan mengisolasi dan memurnikannya secara efisien memungkinkan untuk penggunaan serta memproduksi dalam skala besar (Soeharsono, dkk., 2010: 93).

Secara umum, BAL terbagi atas dua spesies, yaitu spesies *homofermentatif* yang mampu mengubah 95% heksosa menjadi asam laktat dan spesies *heterofermentatif* yang memproduksi asam laktat dalam jumlah sedikit dan produk yang dihasilkan yaitu etil alkohol, asam asetat, asam format dan karbondioksida

(Sumarsih, dkk., 2009: 2). Proses fermentasi BAL melalui jalur *homofermentatif* dapat dilihat pada gambar di bawah ini.



Gambar 2.6. Jalur katabolit bakteri asam laktat *homofermentatif* (Sumber: Supardi dan Sukanto, 1999)

Selain itu, BAL juga dapat diklasifikasikan menjadi dua famili yaitu *Streptococcaceae* dan *Lactobacillaceae*. Famili dari *Streptococcaceae* terdiri dari bentuk kokus atau bulat telur terdiri dari genus *Streptococcus*, *Leuconostoc* dan *Pediococcus*, sedangkan famili *Lactobacillaceae* merupakan bentuk batang dan anggotanya satu genus yaitu *Lactobacillus*. Masing-masing genus tersebut mempunyai perbedaan kriteria yang didasarkan pada ciri morfologi, tipe fermentasi, kemampuan untuk tumbuh pada suhu berbeda, dan sifat stereospesifik (D atau L laktik) serta toleransi terhadap asam dan basa (Sudarmadji, dkk., 1989).

Klasifikasi BAL sekarang berkembang sehingga genus *Lactobacillus* menjadi *Lactobacillus* dan *Carnobacterium*. Genus *Streptococcus* menjadi empat yaitu *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Vagococcus* dan *Enterococcus*. Genus *Pediococcus*

menjadi *Pediococcus*, *Tetragenococcus* dan *Aerococcus*, sedangkan genus *Leuconostoc* tetap. Klasifikasi tersebut didasarkan atas komposisi asam lemak pada membran sel, motilitas dan urutan rRNA serta persen guanin dan sitosin pada DNA (Jay, 1992).

- Genus *Streptococcus*

Bakteri yang termasuk dalam genus *Streptococcus* berbentuk kokus yang berpasangan atau berantai dengan ukuran 0,7-0,9 μm , bersifat Gram positif, tidak membentuk spora, non motil, bersifat aerobik maupun anaerobik fakultatif dan *homofermentatif* (Wibowo dan Ristanto, 1988). Bakteri dari genus ini tidak dapat tumbuh pada suhu 10°C dan juga pada kadar garam 6,5%. Suhu optimum pertumbuhannya adalah pada suhu 37°-40°C. Menurut Ray (2004), genus *Streptococcus* dalam media glukosa dapat menurunkan pH hingga 4,0, dapat memfermentasi fruktosa dan manosa tetapi tidak memfermentasi galaktosa dan sukrosa, serta memproduksi asam laktat dengan konfigurasi L(+) asam laktat. Grup *Streptococcus* dibagi menjadi 4 spesies yaitu *S. lactis*, *S. lactis* sub Sp. *diacetylactis*, *S. cremoris*, dan *S. thermophilus*. *S. lactis* dan *S. lactis* sub Sp. *diacetylactis* dan pada umumnya terdapat dalam bahan nabati seperti jagung, kulit buah jagung, biji-bijian, kubis, rumput, kentang, daun cengkeh, buah mentimun dan bunganya, serta tidak ditemukan pada kotoran hewan maupun manusia. *S. cremoris* dan *S. thermophilus* tidak terisolasi dari habitat lain selain susu, keju atau susu terfermentasi yang lain (Sudarmadji, dkk., 1989).

- Genus *Leuconostoc*

Untuk BAL dari genus *Leuconostoc* terdapat lima spesies *Leu. mesenteroides*, *Leu. paramesenteroides*, *Leu. lactis*, *Leu. Carnosum* dan *Leu. gelidum*. *Leu.*

mesenteroides mempunyai tiga subspecies yaitu *Leu. mesenteroides sub sp. mesenteroides*, *Leu. mesenteroides sub sp dextranicum* dan *Leu. mesenteroides sub sp. cremoris*. Bakteri ini bersifat Gram positif, selnya berbentuk kokus, tersusun berpasangan atau berbentuk rantai, tidak bergerak, tidak berspora, katalase negatif, anaerob fakultatif, bersifat non motil dan mesofil (Ray, 2004). Bakteri yang termasuk genus ini banyak dijumpai pada permukaan tanaman, daging dan olahannya, produk susu seperti es krim, keju, mentega dan sirup. Genus *Leuconostoc* berperan pula pada fermentasi beberapa sayuran seperti acar dan sauerkraut. *Leu. mesenteroides* mempunyai toleransi terhadap kadar gula yang tinggi (55-60%) (Frazier dan Westhoff, 1988).

- Genus *Pediococcus*

Bakteri yang masuk ke dalam genus ini memiliki sel yang berbentuk kokus berpasangan atau tetrad/bergerombol, Gram positif, katalase negatif, mikroaerofilik dan bersifat *homofermentatif*. Bakteri ini dapat memfermentasi gula menghasilkan 0,5-0,9% asam terutama asam laktat, dapat tumbuh pada larutan garam 5,5%, temperatur untuk pertumbuhannya antara 7°-45°C dengan suhu optimum pertumbuhannya 25°-32°C (Frazier & Westhoff, 1988). Spesies utama dari *Pediococcus* adalah *P. cerevisiae*, *P. halophilus*, *P. pentosaceus* dan *P. acidilactici*. Spesies *Pediococcus* ini banyak ditemukan pada produk pangan terfermentasi seperti miso, kecap, daging dan ikan terfermentasi. *P. halophilus* (*Tetragenococcus halophilus*) merupakan spesies yang penting dalam fermentasi laktat dan digunakan dalam fermentasi produk yang mengandung kadar garam yang tinggi (18% NaCl). Kemampuan tumbuh pada produk dengan kadar garam tinggi inilah yang membedakannya dari BAL yang lain. *P. halophilus* aktif dalam proses fermentasi

kecap kedelai, kecap ikan, miso dan ikan anchovies asin dan ditemukan juga pada bir (Rahayu dan Margino, 1997).

- Genus *Lactobacillus*

Bakteri yang tergolong ke dalam genus *Lactobacillus* memiliki sel yang berbentuk batang yang bervariasi dari batang yang sangat pendek sampai batang yang panjang, bersifat *homofermentatif* atau *heterofermentatif* (Wibowo & Ristanto, 1988). Genus bakteri ini juga bersifat mikroaerofilik, katalase negatif, Gram positif dan memfermentasi gula dengan asam laktat sebagai produk utama. Bila bersifat *homofermentatif* akan memfermentasi gula menjadi asam laktat, sedangkan bila bersifat *heterofermentatif* akan menghasilkan produk volatil termasuk alkohol selain asam laktat. *Lactobacillus* yang bersifat *homofermentatif* tumbuh dengan temperatur optimal 37°C atau lebih rendah, contohnya *L. bulgaricus*, *L. helveticus*, *L. lactis*, *L. acidophilus* dan *L. thermophilus*, sedangkan *L. delbrueckii* dan *L. fermentum* adalah *Lactobacillus heterofermentatif* yang dapat tumbuh pada temperatur tinggi (Frazier & Westhoff, 1988). Bakteri dari genus ini ditemukan pada tanaman, sayur-sayuran, biji-bijian, susu segar dan olahannya serta daging dan produk daging terfermentasi, sayuran terfermentasi dan beberapa spesies ditemukan dalam saluran pencernaan manusia dan hewan (Ray, 2004).

Menurut Misgiyarta dan Widowati (2002), BAL telah banyak diteliti serta dikoleksi oleh peneliti dan praktisi industri di dalam dan luar negeri. Namun demikian, eksplorasi BAL yang banyak terdapat di alam Indonesia perlu untuk menambah koleksi mikroba. BAL yang banyak tersebar di alam Indonesia ini dapat diisolasi dari berbagai sumber antara lain kubis busuk, asinan sawi, sawi busuk, kacang panjang busuk, selada busuk, tomat busuk, limbah tahu, feses bayi, feses sapi,

susu terkontaminasi, susu kedelai, pisang busuk, pepaya busuk, nanas busuk, dan sirsak busuk. Penelitian Davis dan Gasson (1981) berhasil mengisolasi BAL spesies *Streptococcus sp.* yang diisolasi dari susu sapi. Menurut Amudi (2007) BAL yang digunakan dalam fermentasi perlu diseleksi untuk memperoleh isolat yang memiliki kemampuan unggul, sehingga memiliki kelebihan-kelebihan sebagai berikut:

- Memiliki kemampuan adaptasi tinggi terhadap kondisi lingkungan sehingga memiliki tingkat efisiensi yang tinggi.
- Ketersediaan mikroba terjamin, sebab bersumber dari lingkungan alam Indonesia yang dapat diisolasi dari banyak sumber.
- Memungkinkan dimanfaatkan secara luas oleh masyarakat dengan biaya yang relatif murah untuk industri besar, maupun industri kecil

F. Metabolit Bakteri Asam Laktat

Metabolit adalah hasil dari proses metabolisme yang dibedakan menjadi dua macam, yaitu metabolit primer dan metabolit sekunder. Metabolit primer adalah suatu molekul yang merupakan produk akhir atau produk antara dalam proses metabolisme makhluk hidup, yang fungsinya esensial bagi kelangsungan hidup organisme tersebut, serta terbentuk secara intraseluler. Contohnya adalah protein, lemak, karbohidrat, dan DNA. Pada umumnya metabolit primer tidak diproduksi berlebihan. Mikroorganisme menghasilkan metabolit primer, misalnya etanol, dan metabolit sekunder, misalnya antibiotik (Pratiwi, 2008: 120).

Selama fase stasioner, beberapa strain mikroba menyintesis senyawa yang tidak dihasilkan selama tropofase dan fungsinya dalam sel tidak jelas. Senyawa ini disebut produk metabolit sekunder. Fasennya disebut idiofase. Produk yang penting

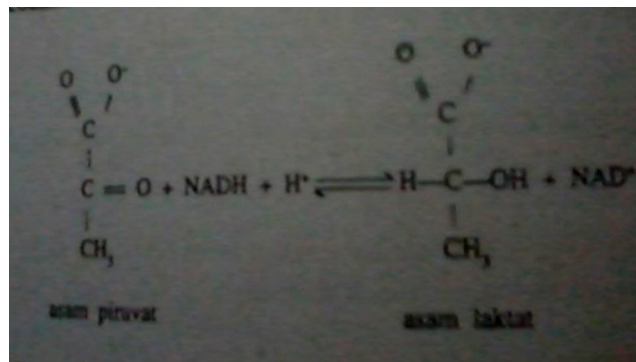
dapat diusahakan secara kultur kontinu dengan kecepatan pertumbuhan yang lambat (Hidayat, dkk., 2006: 11).

Karakteristik utama fungsi metabolit sekunder pada dasarnya tidak diketahui. Ia didefinisikan tidak hanya sekedar sebagai hasil yang tidak berguna (*waste product*) tetapi juga sangat sedikit diketahui sifat-sifat metabolit sekunder. Produksi metabolit sekunder berkaitan dengan beberapa faktor luar (Sastrohamidjojo, 1996: 4). Metabolit sekunder adalah suatu molekul atau produk metabolik yang dihasilkan oleh proses metabolisme sekunder mikroorganisme di mana produk metabolik tersebut bukan merupakan kebutuhan pokok mikroorganisme untuk hidup dan tumbuh. Meskipun tidak dibutuhkan untuk pertumbuhan namun metabolit sekunder dapat juga berfungsi sebagai nutrisi darurat untuk bertahan hidup. Fungsi metabolit sekunder bagi mikroorganisme penghasil itu sendiri sebagian besar belum jelas. Metabolit sekunder dibuat dan disimpan secara ekstraseluler. Metabolit sekunder banyak bermanfaat bagi manusia dan makhluk hidup lain karena banyak diantaranya bersifat sebagai obat, pigmen, vitamin ataupun hormon (Pratiwi, 2008: 129-130).

BAL sebagai salah satu jenis bakteri yang memproduksi metabolit berupa asam organik (asam laktat, asam format, dan asam asetat), diasetil, hidrogen peroksida (H_2O_2), karbondioksida (CO_2) dan bakteriosin. Selama proses fermentasi, bakteri asam laktat akan menghasilkan metabolit-metabolit yang menimbulkan perubahan rasa dan bentuk makanan serta menghambat pertumbuhan bakteri patogen dan pembusuk (Asriani, 2006: 7).

Asam organik yang dihasilkan dari hasil metabolisme BAL banyak digunakan dalam makanan sebagai pengawet, GRAS yang memiliki spektrum luas sebagai agen antibakteri. Asam organik efektif mengawetkan makanan karena selain aktivitas

antibakterinya, asam organik juga bertindak sebagai penambah rasa asam (Desniar, dkk., 2012: 136). Asam laktat sebagai salah satu jenis asam organik dihasilkan dengan terjadinya proses reduksi langsung dari asam piruvat oleh NADH untuk membentuk asam laktat sebagai produk limbahnya, tanpa melepas CO₂ (Campbell, dkk., 2002: 174). Sedangkan asam asetat merupakan cairan yang tidak berwarna dengan bau asam yang tajam dengan berat jenis 1,049 dan titik didih 118,1°C pada tekanan 1 atm serta daya larutnya sebanding dengan air, alkohol, gliserol, eter pada suhu kamar (Hidayat, dkk., 2006: 165).



Gambar 2.7. Proses pembentukan asam laktat (Sumber: Poedjadi dan Titin, 2007: 264).

Sedangkan H₂O₂ diproduksi oleh BAL di bawah kondisi pertumbuhan aerob dan berkurangnya katalase selular, *peudokatalase* atau *peroksidase*. H₂O₂ merupakan oksidator, *bleaching agent* dan antibakteri. H₂O₂ murni tidak berwarna, berbentuk cairan seperti sirup dan memiliki bau yang menusuk. BAL mensekresikan H₂O₂ tersebut sebagai alat pelindung diri yang mampu bersifat bakteriostatik maupun bakterisidal (Widiasih, 2008: 5).

Metabolit yang bersifat antimikrobia yang diproduksi oleh BAL dapat dibagi menjadi dua grup yaitu komponen bermassa molekul rendah (<1000 Da), misalnya asam organik yang mempunyai spektrum aksi yang luas dan protein antimikrobia

yang dikenal sebagai bakteriosin (>1000 Da) yang secara relatif mempunyai aksi spesifik melawan organisme lain yang mempunyai hubungan dekat dan bakteri Gram positif lainnya (Amanah, 2011: 6).

G. Aktivitas Antimikroba

Pencegahan atau pengendalian infeksi yang disebabkan oleh mikroba memerlukan cara yang secara efektif dapat menghasilkan satu atau lebih hal berikut ini: (a) Dekstruksi atau pengendalian agen mikrobial dari parasit, (b) Menghilangkan atau mengendalikan sumber, rute, atau agen transmisi dari infeksi dan (c) perlindungan sebagian atau total *hospes* dari pengaruh buruk penyakit dengan meningkatkan daya tahan, pemberian terapi spesifik terhadap infeksi, atau keduanya (Tambayong, 2000: 25).

Metode pencegahan dan pengobatan yang telah dikemukakan untuk memberantas penyakit karena mikroba mencakup imunisasi (misalnya vaksinasi), antiseptis (cara-cara untuk meniadakan atau mengurangi kemungkinan infeksi), kemoterapi (perawatan pasien dengan bahan kimia), dan cara-cara kesehatan masyarakat (misalnya, pemurnian air, pembuangan limbah, dan pengawetan makanan) (Pelczar dan Chan, 2008: 19-20).

Substansi yang dapat mematikan atau mencegah pertumbuhan mikroba disebut bahan antimikroba. Lebih khusus lagi misalnya antibakteri, antivirus, antifungi dan antiprotozoa, tergantung jenis mikroba yang dipengaruhi. Bahan antimikroba yang mematikan mikroba disebut mikrobisida. Nama seperti bakterisida, virusida, dan fungisida menunjukkan jenis mikroba sasaran. Sedangkan mematikan semua organisme yang ada dalam semua bahan termasuk spora disebut sterilisasi.

Bahan yang menghambat pertumbuhan mikroba disebut mikrobiostatik misalnya bakteriostatik atau fungistatik (Hafsan, 2011: 141).

Tidak semua jenis mikroba dapat dibunuh oleh suatu antimikroba. Misalnya penicillin berkhasiat untuk membunuh *S. aureus*, tetapi tidak berkhasiat terhadap *S. Typhi*. Bahkan, dapat terjadi *S. aureus* yang biasanya sensitif terhadap penicillin berubah menjadi resisten terhadap penicillin. Hal ini disebabkan bakteri tersebut mengadakan mutasi yang dapat terjadi karena pengobatan yang dilakukan tidak dengan semestinya (Entjang, 2003: 53).

Resistensi terhadap agen antimikroba telah menjadi semakin meningkat dan menjadi masalah global. Dari 2 juta orang-orang yang mendapatkan infeksi bakteri di rumah sakit AS setiap tahun, dan 70% kasus tersebut melibatkan strain mikroba yang resisten terhadap satu macam obat. Hal yang sama juga menjadi salah satu penyebab utama keprihatinan di Inggris yaitu terjadi *methicillin-resistant S. aureus* (MRSA) (Cushnie dan Andrew, 2005: 343).

Pada mulanya diduga aktivitas antimikroba adalah antagonisme kompetitif, tetapi nyatanya antagonisme kompetitif jarang terjadi. Salah satu contoh yang berdasarkan atas kejadian ini ialah sulfonamida yang dapat menggantikan kedudukan *Para-Amino Benzoid Acid* (PABA) yang merupakan metabolit esensial dalam sintesis asam folat. Sulfonamida dalam strukturnya analog dengan PABS dan bersaing dengan PABA menempatkan diri dalam pusat enzim yang aktif, sehingga terbentuk asam folat tetapi mencegah pertumbuhan bakteri. Kebanyakan zat antimikroba yang efektif kerjanya mengganggu sintesis, penyusunan atau fungsi komponen-komponen makromolekul sel, seperti penghambatan pembentukan dinding sel oleh polimiksin, penghambatan sintesis protein oleh kloramfenikol (Irianto, 2010: 93).

Antimikroba yang ideal menunjukkan toksisitas selektif. Hal ini secara tidak langsung menjelaskan bahwa obat berbahaya bagi parasit dan tidak membahayakan inang. Seringkali toksisitas selektif lebih bersifat relatif dan tidak mutlak, hal ini menyatakan bahwa konsentrasi obat-obatan yang toleran terhadap inang, mungkin merusak mikroorganisme penyebab infeksi. Toksisitas selektif mungkin merupakan reseptor spesifik yang dibutuhkan untuk melekatnya obat-obatan, atau bisa karena hambatan biokimia yang bisa terjadi bagi organisme namun tidak bagi inang. Mekanisme aksi obat antimikroba tidak sepenuhnya dimengerti. Namun, mekanisme aksi ini dapat dikelompokkan dalam 4 kelompok utama:

- Penghambatan terhadap sintesis dinding sel
- Penghambatan terhadap fungsi membran sel
- Penghambatan terhadap sintesis protein (misal, penghambatan translasi dan transkripsi material genetik)
- Penghambatan terhadap sintesis asam nukleat (Brooks, dkk., 2005: 224).

Berbagai proses serta substansi yang banyak digunakan sebagai sarana antimikroba bekerja menurut salah satu dari berbagai cara. Sangatlah bermanfaat untuk mengetahui bagaimana tepatnya cara kerja zat tersebut dalam menghambat atau mematikan mikroorganisme. Misalnya, keterangan tersebut dapat dimanfaatkan untuk menduga keadaan terbaik bagi penggunaan zat tersebut serta terhadap jenis mikroorganisme mana zat antimikroba tersebut dapat bekerja paling efektif. Pengetahuan ini dapat juga membantu dalam merencanakan pembuatan zat antimikroba baru yang lebih efektif (Pelczar dan Chan, 2009: 456).

Kemampuan suatu zat antimikroba dalam menghambat pertumbuhan bakteri dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu (1) konsentrasi zat pengawet, (2) waktu

penyimpanan, (3) suhu lingkungan, (4) sifat-sifat mikroba (jenis, umur, konsentrasi serta keadaan mikroba), (5) sifat-sifat fisik dan kimia makanan termasuk kadar air, pH, jenis senyawa didalamnya (Davidson dan Branen, 1993). Penelitian-penelitian antimikroba telah banyak dilakukan terutama dari berbagai jenis tanaman rempah-rempah. Namun para ilmuwan terus berusaha untuk mencari sumber antimikroba baru, terutama yang mudah tumbuh di Indonesia. Tumbuhan yang digunakan untuk obat tradisional dapat dijadikan alternatif pencarian zat antimikroba, karena pada umumnya memiliki zat aktif yang sangat berperan dalam bidang kesehatan (Zuhud, dkk., 2001: 6). Bahan-bahan antimikroba dapat diperoleh secara alamiah pada bahan-bahan pangan seperti minyak esensial dan tanin pada bahan pangan asal tumbuh-tumbuhan dan *lysozyme* serta *avidin* dalam telur (Supardi dan Sukanto, 1999: 27-28).

Allah SWT berfirman dalam QS Saad/ 38: 27 yaitu sebagai berikut:

وَمَا خَلَقْنَا السَّمَاءَ وَالْأَرْضَ وَمَا بَيْنَهُمَا بَاطِلًا ۚ ذَٰلِكَ ظَنُّ الَّذِينَ كَفَرُوا ۚ
فَوَيْلٌ لِلَّذِينَ كَفَرُوا مِنَ النَّارِ ﴿٢٧﴾

Terjemahnya:

dan Kami tidak menciptakan langit dan bumi dan apa yang ada antara keduanya tanpa hikmah. yang demikian itu adalah anggapan orang-orang kafir, Maka celakalah orang-orang kafir itu karena mereka akan masuk neraka (Departemen Agama RI, 2009: 589).

Melalui ayat tersebut, Allah SWT menjelaskan bahwa Dia menciptakan langit, bumi dan makhluk apa saja yang berada di dalamnya dengan tidak sia-sia. Termasuk langit dengan segala bintang yang menghiasi, matahari yang memancarkan sinarnya di waktu siang serta bumi yang merupakan tempat tinggal manusia, baik yang tampak dipermukaannya maupun yang tersimpan didalamnya yang memiliki arti yang sangat besar bagi kehidupan manusia. Kesemuanya itu diciptakan Allah atas kekuasaan dan

kehendaknya sebagai rahmat yang tak ternilai harganya, termasuk diciptakan-Nya berbagai jenis organisme (tumbuhan, hewan, mikroorganisme) dengan manfaatnya masing-masing bagi kehidupan manusia agar kita dapat mengambil pelajaran dari ciptaan-Nya tersebut.

Monogliserol yang terkandung pada minyak kelapa (VCO) pada awalnya hanya dikenal sebagai bahan pengemulsi pangan ternyata dapat berperan sebagai bahan pengawet pangan dan sifat ini tidak dimiliki oleh monogliserol yang berasal dari minyak nabati lain. Perbedaan ini terutama oleh adanya asam lemak jenuh rantai pendek dan menengah, sedangkan minyak nabati lain didominasi oleh asam lemak tidak jenuh dan asam lemak jenuh rantai panjang (Asriani, 2006).

VCO yang bagus digunakan sebagai antibakteri adalah VCO dengan kadar asam laurat yang tinggi. VCO mengandung tiga asam lemak rantai menengah (*medium chain fatty acids*) yaitu asam laurat (50-53%), asam kaprilat, dan asam kaprat yang semuanya memiliki efek antijamur terhadap *Candida* dan jamur lainnya. Mekanisme dimana lipid mampu membunuh bakteri belum diketahui, tetapi berdasarkan pengamatan dengan menggunakan mikroskop elektron menunjukkan bahwa keberadaan lipid mampu mengganggu atau merusak membran sel bakteri (Ogbolu, dkk., 2007: 385).

Beberapa jenis asam lemak bebas telah terbukti memiliki daya antibakteri sangat kuat terhadap *C. welchii*, diantaranya adalah linoleat (18:2), arakhidonat (20:4), dan linolenat (18:3) dengan nilai konsentrasi penghambatan minimum (MIC) antara 0.06-0.28 mg/mL. Selanjutnya asam lemak seperti miristoleat (14:1), palmitoleat (16:1), linolenat (18:3), kaprat (10:0), laurat (12:0), dan miristat (14:0), juga terbukti memiliki aktivitas antibakteri (*S. aureus*), masing-masing dengan nilai

MIC rata-rata di bawah 1.0 mg/mL, sementara asam lemak kaproat (6:0), kaprilat (8:0), stearat (18:0), elaidat (18:1-t), dan arakhidonat (20:4), tidak memiliki aktivitas penghambatan terhadap *S. aureus* pada konsentrasi ≤ 1.00 mg/mL di dalam medium uji (Murhadi, 2009: 100).

Asam laurat dalam minyak kelapa pertama kali ditemukan pada tahun 1960 oleh Prof. Dr. Jon. J. Kabara, ahli lipid dari *Departemen of Chemistry and Pharmacology*, Michigan University, Amerika Serikat. Dia berhasil membuktikan bahwa asam laurat dapat meningkatkan daya tahan tubuh. Selain itu, asam laurat dapat membunuh berbagai jenis mikroorganisme yang membran selnya berasal dari lemak (*lipid coated microorganisms*). Mikroorganisme seperti itu di antaranya virus HIV, hepatitis, influenza, herpes, dan *cytomegalovirus*. Asam laurat juga mampu membunuh bakteri *Streptococcus* sp, *Staphylococcus* sp, *Helicobacter pylori*, dan jamur penyebab keputihan pada wanita (Sukartin dan Maloedyn, 2005: 22-23).

Antimikroba asam laurat dari VCO mempunyai efek sinergi dengan bahan pengawet pangan lain, seperti asam sitrat, asam atau garam laktat serta asam atau garam sorbat. Davidson dan Branen (1994) melaporkan bahwa penggunaan campuran monolaurin dengan kalsium laktat dapat meningkatkan waktu simpan kamaboko (pasta ikan) dari 6 hari menjadi 20 hari. Catsara, dkk (1987) melaporkan bahwa penggunaan laurilak (campuran monolaurin dengan asam laktat) sebanyak 500 ppm dalam daging sapi giling dapat mereduksi total koloni *S. Thypimurium* dari $2,47 \times 10^5$ CFU/gram menjadi kurang dari 10^2 CFU/gram.

Asam-asam organik yang banyak digunakan sebagai bahan pengawet pangan sebagian besar diproduksi oleh BAL sehingga menurut Soeharsono (2010), metabolit yang dihasilkan oleh BAL memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan

bakteri patogen. Komponen penghambat yang dihasilkan oleh *Lactobacillus spp*, meliputi bakteriosin yang memiliki sifat khusus (yaitu nisin, reuterin, acidolin, bulgaricin), substansi seperti bakteriocin dan substansi antagonis lainnya seperti H_2O_2 dan beberapa asam-asam organik tertentu. Walaupun *Lactobacilli* kurang efektif dalam mengurangi koloni *Salmonella* pada unggas, komponen yang dihasilkan oleh *Lactobacilli* aktif dalam melawan spesies bakteri spektrum luas. Beberapa sifat penghambat juga memiliki keefektifan yang bervariasi, beberapa bakteriosin hanya menghambat bakteri Gram positif, sedangkan acidolin menghambat beberapa spesies bakteri Gram positif dan Gram negatif, dan reuterin dapat menghambat semua bakteri, jamur dan fungi (Soeharsono, dkk., 2010: 168).

Bakteriosin adalah toksin yang menyerupai protein yang dilepaskan oleh bakteri untuk menghambat pertumbuhan dari bakteri dengan strain serupa. Bakteriosin adalah bahan antibakteri bersifat protein dan menunjukkan aktivitas bakterisida terhadap spesies yang erat hubungannya dengan strain penghasil bakteriosin. Dengan demikian, bakteriosin adalah peptida antimikroba, protein atau ikatan protein yang istimewa menghambat strain serupa. Aktivitasnya langsung menghambat spesies-spesies yang erat hubungannya. Sebagian aktivitas penghambatan *Lactobacillus* terhadap organisme pembusuk dianggap merupakan akibat kerja bakteriosin. Banyak bakteriosin yang dihasilkan oleh bakteri pembentuk asam laktat bekerja langsung terhadap bakteri pembusuk atau bakteri patogen *foodborne* seperti *Bacillus*, *Clostridium*, *Listeria*, dan *Staphylococci* (Soeharsono, dkk., 2010: 93-94).

Selain bakteriosin, senyawa antimikroba yang juga dihasilkan oleh bakteri asam laktat adalah H_2O_2 . Senyawa ini mempunyai sifat antimikroba yang sedang,

karena kemampuannya mengoksidasi. Kerja H_2O_2 terbatas karena enzim katalase yang terdapat dalam cairan jaringan dengan cepat merombak H_2O_2 menjadi air dan oksigen bebas (Volk dan Wheeler, 1993: 229). Kemampuan bakterisida dari H_2O_2 beragam tergantung pH, konsentrasi, suhu, waktu dan tipe serta jumlah mikroorganisme. Jenis bakteri yang paling sensitif terhadap senyawa ini adalah bakteri Gram negatif (Widiasih, 2008: 5). Efek antibakteri H_2O_2 adalah hasil oksidasi grup *sulfohydryl* yang menyebabkan denaturasi sejumlah enzim dan dari peroksidase membran lipid meningkatkan permeabilitas membran (Desniar, dkk., 2012, 136).

Selain bakteriosin dan H_2O_2 , senyawa yang dihasilkan oleh BAL yang juga mempunyai efek antimikroba yaitu asam organik terutama asam laktat. Asam laktat dapat berfungsi sebagai antimikroba karena dapat menyebabkan perubahan pH secara signifikan. Terbentuknya asam laktat dan asam organik oleh bakteri asama laktat dapat menyebabkan penurunan pH dan mengakibatkan mikroba yang tidak tahan terhadap kondisi pH yang relatif rendah akan terhambat. Aktivitas asam-asam lipofilik seperti asam laktat dan asetat dalam bentuk tidak terdisosiasi dapat menembus sel mikroba dan pada pH intraseluler yang lebih tinggi, berdisosiasi menghasilkan ion-ion hidrogen dan mengganggu fungsi metabolik esensial seperti translokasi substrat dan fosforilasi oksidatif sehingga mereduksi pH intraseluler (Widiasih, 2008: 4).

Beberapa penelitian telah melaporkan efek penghambatan dari berbagai asam organik terhadap mikroba patogen atau perusak, diantaranya adalah Bloom, dkk (1997) yang menyatakan bahwa penggunaan asam organik berupa 2,5% asam laktat dan 0,25% asam asetat pada penyimpanan suhu rendah mampu memperpanjang masa simpan dari daging babi panggang hingga 5 minggu. Penelitian lain juga telah

dilaporkan oleh Castilo, dkk (2001) yang menggunakan larutan asam laktat pada konsentrasi 4% (volume 500 mL) dengan cara menyemprotkan pada karkas sapi dan mampu mereduksi mikroba patogen yakni koliform dan *E. coli*. Pitt, dkk (2000) melaporkan hasil temuannya yang menggunakan berbagai jenis asam organik produksi bakteri asam laktat pada susu pasteurisasi yang mampu menghambat pertumbuhan *L. monocytogenes*.

H. Hipotesis

Berdasarkan kajian-kajian teori yang terkait dengan VCO dan metabolit yang dihasilkan oleh BAL, dapat dirumuskan bahwa hipotesis dari penelitian ini adalah daya hambat VCO terhadap bakteri patogen akan mengalami peningkatan jika disuplementasikan dengan metabolit yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat (BAL).

BAB III

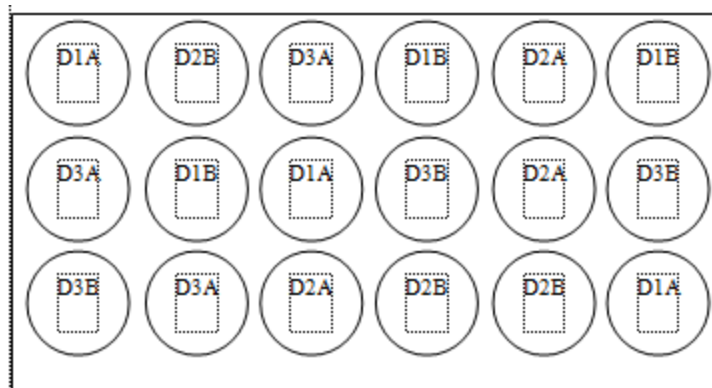
METODOLOGI PENELITIAN

A. Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan ialah penelitian eksperimental, dimana diharapkan dari penelitian ini bisa diketahui kemampuan daya VCO yang disuplementasi dengan metabolit BAL terhadap bakteri patogen yaitu *S. Thypi* dan *B. cereus*. Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 6 perlakuan dan 3 kali ulangan dengan rincian perlakuan sebagai berikut:

1. D₁A = VCO 250 μ L terhadap *S. Thypi*
2. D₂A = Metabolit BAL 250 μ L terhadap *S. Thypi*
3. D₃A = Formulasi VCO dan metabolit BAL 250 μ L terhadap *S. Thypi*
4. D₁B = VCO 250 μ L terhadap *B. cereus*
5. D₂B = Metabolit BAL 250 μ L terhadap *B. cereus*
6. D₃B = Formulasi VCO dan metabolit BAL 250 μ L terhadap *B. cereus*

Adapun *layout* penelitiannya yaitu sebagai berikut:



Gambar 3.1. *Layout* penelitian

B. Variabel Penelitian

Pada penelitian ini terdapat dua macam variabel. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah formulasi VCO dan metabolit BAL, sedangkan variabel terikat pada penelitian ini adalah daya hambat terhadap bakteri patogen (*S. Thypi* dan *B. cereus*).

C. Defenisi Operasional Variabel

1. Formulasi VCO dan metabolit BAL adalah komposisi VCO atau metabolit BAL maupun gabungan keduanya dengan perbandingan 3:5 yang dilarutkan dengan tween 80, untuk diketahui kemampuan daya hambatnya terhadap bakteri patogen (*S. Thypi* dan *B. cereus*).
2. Daya hambat terhadap bakteri patogen (*S. Thypi* dan *B. cereus*) adalah kemampuan formulasi VCO dan metabolit BAL yang ditunjukkan oleh diameter zona bening yang terbentuk di sekitar sumuran sampel dengan menggunakan metode *well-diffusion* setelah dilakukan inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam yang diukur dengan menggunakan jangka sorong dan dinyatakan dalam satuan milimeter (mm).

D. Ruang Lingkup dan Batasan Penelitian

1. VCO yang digunakan dibuat dari tanaman kelapa (*Cocos nucifera*. L) varietas kelapa dalam yang tua atau berumur ± 12 bulan yang dibuat dengan metode *mixing*.
2. Bakteri asam laktat yang digunakan adalah BAL dari genus *Streptococcus* yang diisolasi dari Itik (*Anas domestica*) yang merupakan koleksi Laboratorium

Mikrobiologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Hasanuddina (UNHAS) Makassar.

3. Bakteri patogen uji yang digunakan yaitu *B. cereus* ATCC (*American Type Culture Collection*) diperoleh dari koleksi Balai Besar Laboratorium Kesehatan (BBLK) Makassar, sedangkan *S. Thypi* ATCC diperoleh dari koleksi Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran UNHAS.
4. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari 2014 di Instalasi Mikrobiologi BBLK Makassar.

E. Alat dan Bahan

1. Alat-alat

Adapun alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah autoklaf, batang pengaduk, botol semprot, bunsen, cawan petri, corong, erlenmeyer, gelas kimia, gelas ukur, *hot plate*, inkubator, jangka sorong, *laminar air flow* (LAF), mesin pamarut kelapa, mikropipet, *mixer*, neraca analitik, ose bulat, rak tabung, ring (pencadang), saringan, *sentrifuge*, spoit, dan tabung reaksi.

2. Bahan-bahan

Adapun bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah aquadest, *blue* dan *white* tip, buah kelapa, ekstrak khamir, glukosa, kapas, kultur bakteri yaitu *B. cereus*, *S. Thypi* dan BAL dari genus *Streptococcus*, medium *Mueller-Hinton Agar* (MHA), medium *deMann, Rogosa and Sharpe Broth* (MRSB), *sterile syringe filter* ukuran 0,20 μm , tripton dan tween 80.

F. Prosedur Kerja

1. Sterilisasi alat dan bahan

Alat-alat yang tahan terhadap panas tinggi misalnya labu erlenmeyer, cawan petri, dan tabung reaksi, disterilkan dengan menggunakan oven biasanya pada suhu 180°C, tetapi terlebih dahulu dicuci bersih dan disterilkan dengan menggunakan alkohol kemudian dibungkus dengan kertas. Alat yang terbuat dari kawat platina seperti kawat ose, disterilkan dengan menggunakan bunsen dengan cara membakar alat tersebut di atas api sampai pijar, disamping itu juga digunakan dalam pengerjaan secara aseptis untuk menghindari terjadinya kontaminasi. Sedangkan media dan bahan disterilkan dengan tekanan tinggi, dengan menggunakan autoklaf, pada tekanan 2 atm dengan suhu 121°C selama 15 menit.. Medium yang disterilkan adalah medium MRSB, MHA, dan aquadest.

2. Pembuatan medium *Mueller-Hinton Agar* (MHA) dan *deMann, Rogosa and Sharpe Broth* (MRSB).

Untuk pembuatan medium MHA yaitu dengan melarutkan bubuk MHA sebanyak 34 gram ke dalam 1 L aquadest kemudian dipanaskan sambil diaduk hingga homogen. Selanjutnya wadah ditutup dengan baik, kemudian disterilkan dalam autoklaf pada tekanan 2 atm, suhu 121°C selama 15 menit.

Sedangkan untuk pembuatan medium MRSB, dilakukan dengan cara melarutkan 52 gram bubuk MRSB ke dalam 1 L aquadest, kemudian dipanaskan sambil diaduk hingga homogen dan selanjutnya disterilkan dalam *autoclaf* selama 15 menit pada suhu 121°C. Untuk pembuatan medium MRSB modifikasi sama dengan cara pembuatan MRSB pada umumnya, namun dilakukan penambahan 2% glukosa, 2% ekstrak khamir dan 1% tripton.

3. Inokulasi Bakteri Uji pada Media Agar Miring

Preparasi kultur bakteri uji dilakukan dengan mengambil bakteri uji menggunakan ose steril, lalu ditanamkan pada media agar dengan cara menggores. Selanjutnya diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam. Perlakuan yang sama dilakukan pada setiap jenis bakteri uji (Siregar, 2009).

4. Pembuatan *Virgin Coconut Oil* (VCO)

Proses pembuatan VCO dilakukan dengan memodifikasi proses pembuatan VCO yang dikemukakan oleh Setiaji & Surip (2006) yaitu kelapa dikupas dengan cara memisahkan antara daging buah dengan kulit sabut dan tempurungnya, lalu airnya dibuang. Kelapa yang sudah dikupas ditempatkan di dalam satu wadah dan siap untuk diparut. Kelapa diparut dan dikumpulkan dalam wadah yang cukup besar, agar hasil parutan tidak berhamburan. Parutan kelapa dicampur dengan air bersih, lalu diperas. Hasil perasan kelapa ditampung di dalam toples plastik. Proses pemerasan kelapa ini dilakukan dua kali. Jadi, ampas hasil perasan pertama dicampur lagi dengan air bersih, lalu diperas dan hasil perasan disaring dan ditampung di dalam toples plastik. Proses pemerasan ini sangat penting dan harus segera dilakukan, karena jika hasil parutan kelapa terlalu lama didiamkan rasanya akan asam dan tidak bisa menghasilkan VCO. Air hasil perasan yang ada di toples plastik didiamkan sekitar 2 jam, sehingga terdapat 2 lapisan lapisan atas adalah kanil (krim) dan bagian bawah adalah air (skim). Setelah air terbuang, proses selanjutnya kanil (krim) dapat diolah dengan menggunakan *mixer* dengan kecepatan tinggi untuk memutuskan ikatan lemak dan protein pada santan. Selanjutnya akan terbentuk tiga lapisan yaitu lapisan pertama berada paling bawah adalah air, lapisan kedua berada ditengah adalah blonde dan lapisan ketiga yang paling atas minyak. Minyak yang berada di lapisan atas

adalah minyak VCO, karena itu harus ditampung di tempat bersih dan higienis (toples plastik atau lainnya). Cara mengambil minyak dengan memasukkan selang kecil (spoit), lalu disedot dan ditampung dalam wadah yang telah disiapkan. Untuk menghindari masuknya bakteri dan membuang kadar air dilakukan penyaringan hingga 3 kali untuk mendapatkan minyak yang jernih (Cristianti & Adi, 2009: 11-12).

5. Produksi Metabolit BAL

Produksi metabolit BAL dilakukan dengan mengikuti metode Jenie, dkk (2000) dengan beberapa modifikasi. Isolat BAL sebanyak satu ose dari kultur stok agar miring diinokulasikan ke dalam 10 mL medium MRSB dan diinkubasi selama 2 hari pada suhu 37°C. Selanjutnya sebanyak 4% (v/v) kultur tersebut diinokulasikan ke dalam media steril MRSB modifikasi kemudian diinkubasi selama 2 hari pada suhu 37°C. Setelah diinkubasi, kultur disentrifuge dengan kecepatan 10.000 rpm selama 15 menit untuk memisahkan supernatan dengan massa sel. Supernatan dipisahkan dari endapan dengan menggunakan *sterile syringe filter* ukuran 0,20 µm dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi steril (Asriani, dkk., 2007: 127).

6. Pengujian Daya Hambat

Pengujian daya hambat dilakukan dengan menggunakan menggunakan metode Bromberg, dkk (2004) dengan beberapa modifikasi. Pengujian daya hambat dilakukan dengan terlebih dahulu membuat suspensi bakteri yang setara dengan 0,5 unit *Mc Farland* dengan cara mengambil satu ose koloni bakteri uji dari biakan murni dan disuspensikan ke dalam NaCl steril 5 mL kemudian 50 µL dipipet kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi medium MHA suhu 45°C sebanyak 10 mL kemudian medium yang berisi suspensi bakteri dituang ke dalam cawan petri yang berisi medium MHA yang telah memadat sebanyak 20 mL, kemudian cawan

petri digoyang-goyangkan agar suspensi bakteri menyebar secara merata, selanjutnya diletakkan 3 buah pencandang pada masing-masing cawan petri. Selanjutnya pada masing-masing pencandang dimasukkan sampel uji (VCO, metabolit BAL serta campuran VCO dan metabolit BAL) sebanyak 250 μ L. Untuk melarutkan VCO agar bisa bercampur dengan metabolit BAL digunakan tween 80 sebanyak 2,5 mL dan perbandingan antara VCO dan metabolit BAL yaitu 3:5 (Asriani, 2006). Selanjutnya diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Zona bening yang terbentuk disekitar sumuran sampel diukur dengan menggunakan jangka sorong untuk menentukan diameter zona hambat dari berbagai jenis zat yang diuji kemampuan daya hambatnya.

G. Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis secara statistik inferensial dengan menggunakan uji *One-Way Anova* dan di lanjutkan dengan *LSD Post Hoc Test* uji lanjutan beda nyata terkecil atau *Least Signifikan Different* untuk mengetahui lebih lanjut perbedaan yang terjadi antar perlakuan dengan menggunakan program *Statistical Product and Service Solutions (SPSS) for Microsoft Windows release 21* dan $p < 0,05$ dipilih sebagai tingkat minimal signifikasinya.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Uji Daya Hambat VCO, Metabolit BAL, serta VCO dan metabolit BAL terhadap *S. Thypi*

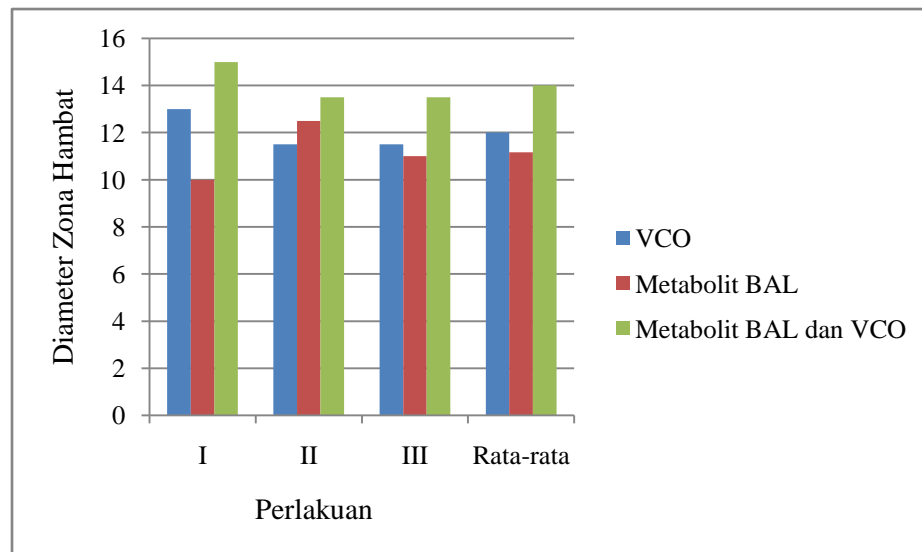
Pada penelitian yang dilakukan untuk mengetahui daya hambat dari tiap-tiap sampel uji yang digunakan yang terdiri dari VCO, metabolit BAL serta campuran antara VCO dan metabolit BAL terhadap pertumbuhan *S. Thypi* dengan menggunakan metode *well-diffusion*, pada setiap perlakuan didapatkan hasil pengukuran diameter zona hambat seperti diperlihatkan pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1. Diameter zona hambat VCO, metabolit BAL, serta VCO dan metabolit BAL terhadap *S. Thypi*

NO	Perlakuan	Hasil Pegukuran Zona Bening (mm)			
		I	II	III	Rata-rata
1.	VCO	13	11,5	11,5	12
2.	Metabolit BAL	10	12,5	11	11,17
3.	Metabolit BAL dan VCO	15	13,5	13,5	14

Selain dalam bentuk tabel, diameter zona hambat VCO, metabolit BAL, serta VCO dan metabolit BAL terhadap pertumbuhan *S. Thypi* yang diperoleh dari hasil penelitian dapat digambarkan dalam bentuk grafik, seperti yang ditunjukkan pada Grafik 4.1.

Grafik 4.1. Diameter zona hambat VCO, metabolit BAL serta VCO dan metabolit BAL terhadap *S. Thypi*



Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, sebagaimana ditunjukkan pada Tabel 4.1. dan Grafik 4.1., menunjukkan bahwa ketiga sampel uji yang digunakan memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan *S. Thypi*. Namun untuk membuktikan hipotesis pada penelitian ini, data yang diperoleh dianalisis secara statistik dengan menggunakan *Anova* dengan tingkat kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$). Hasil yang diperoleh ditunjukkan pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2. Hasil uji hipotesis zona hambat VCO, metabolit BAL serta VCO dan metabolit BAL terhadap *S. Thypi* dengan menggunakan *Anova*

Perbedaan Daya Hambat	Jumlah Kuadrat	Db	Kuadrat Tengah	F	P
Antar Perlakuan	12.722	2	6.361	6.189	.035
Inter perlakuan	6.167	6	1.028		
Total	18.889	8			

2. Uji Daya Hambat VCO, Metabolit BAL, serta VCO dan metabolit BAL terhadap *B. cereus*

Pada penelitian yang dilakukan untuk mengetahui daya hambat dari tiap-tiap sampel uji yang digunakan yang terdiri dari VCO, metabolit BAL serta campuran antara VCO dan metabolit BAL terhadap pertumbuhan *B. cereus* dengan menggunakan metode *well-diffusion*, pada setiap perlakuan didapatkan hasil pengukuran diameter zona hambat seperti diperlihatkan pada tabel di bawah ini.

Tabel 4.3. Diameter zona hambat VCO, metabolit BAL, serta VCO dan metabolit BAL terhadap *B. cereus*

NO	Perlakuan	Hasil Pegukuran Zona Bening (mm)			
		I	II	III	Rata-rata
1.	VCO	0	0	0	0
2.	Metabolit BAL	0	0	0	0
3.	Metabolit BAL dan VCO	0	0	0	0

Pada pengujian daya hambat dari tiap-tiap sampel uji yang digunakan terhadap pertumbuhan *B. cereus* dengan mengamati dan mengukur zona bening yang terbentuk di sekitar sumuran sampel, menunjukkan bahwa ketiga sampel uji yang digunakan pada penelitian ini tidak memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan *B. cereus* yang ditunjukkan dengan tidak terbentuknya zona bening di sekitar sumuran sampel (diameter zona hambat = 0), sehingga pada pengujian daya hambat VCO, metabolit BAL, serta campuran antara VCO dan metabolit BAL tidak dilanjutkan dengan pengujian statistik (pengujian hipotesis).

B. Pembahasan

1. Uji Daya Hambat VCO, Metabolit BAL, serta VCO dan metabolit BAL terhadap *S. Thypi*

Pada penelitian yang dilakukan untuk mengetahui daya hambat tiap-tiap sampel uji yang digunakan yaitu VCO, metabolit BAL maupun gabungan keduanya terhadap pertumbuhan *S. Thypi* dilakukan tiga jenis perlakuan dengan masing-masing tiga kali pengulangan untuk tiap-tiap perlakuan. Dari hasil pengukuran zona daya hambat yang dimiliki oleh VCO, metabolit BAL serta gabungan antara VCO dan metabolit BAL yang ditunjukkan pada Tabel 4.1., dilakukan pengujian hipotesis menggunakan *Anova* dengan tingkat kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$) menggunakan program *Statistical Product and Service Solutions* (SPSS) diperoleh hasil yang menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan di antara hasil perlakuan. Sebagaimana hasil yang diperoleh pada Tabel 4.2. yang menunjukkan bahwa nilai p hitung ($0,035$) $< \alpha$ ($0,05$). Sehingga dapat dikatakan bahwa terdapat pengaruh pemberian VCO, metabolit BAL serta gabungan antara VCO dan metabolit BAL terhadap pertumbuhan *S. Thypi* dengan perbedaan antar perlakuan bersifat signifikan sehingga dapat dikatakan bahwa hipotesis yang diajukan terbukti, bahwa efek penghambatan yang ditimbulkan oleh gabungan antara VCO dan metabolit BAL lebih besar bila dibandingkan dengan penggunaan tunggalnya sebagai antibakteri.

a. Uji Daya Hambat VCO

Pada pengujian daya hambat VCO terhadap *S. Thypi*, menunjukkan bahwa pada penelitian ini, VCO memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan *S. Thypi* sebagaimana yang ditunjukkan pada Tabel 4.1. Dari 3 kali ulangan, diperoleh rata-rata diameter zona hambat sebesar 12 mm terhadap *S. Thypi* yang berarti bahwa VCO

sebagai antibakteri alami yang memiliki kemampuan daya hambat yang cukup tinggi terhadap *S. Thypi*. Sebagaimana yang disampaikan oleh Mukherjee (1998) yang menyatakan bahwa diameter zona hambatan yang dibentuk oleh antibiotik alami dikatakan intermediet jika terbentuk diameter zona hambatan antara 4-12 mm.

Kemampuan VCO untuk menghambat pertumbuhan bakteri patogen yaitu dalam hal ini *S. Thypi* dikarenakan kandungan asam lemak jenuh yang dimiliki oleh VCO, terutama asam laurat dan asam kaprat (Yulian, 2007). Selain karena kandungan asam lemak jenuh yang dimiliki oleh VCO, kemampuan daya hambat VCO juga ditunjang oleh sifat dari bakteri *S. Thypi* itu sendiri. *S. Thypi* merupakan bakteri Gram negatif yang terdapat di dalam saluran pencernaan manusia dan termasuk ke dalam keluarga *Enterobacteriaceae* yang bersifat motil dan juga anaerob fakultatif sehingga menyebabkan bakteri ini mudah terpengaruh oleh berbagai jenis antibakteri (Winarsih, dkk., 2011).

Mekanisme aktivitas antibakteri dari VCO belum diketahui dengan pasti, namun VCO yang mengandung monogliserol yang bersifat lipofilik ini memungkinkan untuk menembus membran plasma dan menghambat aktivitas enzim yang terlibat dalam produksi energi dan transport nutrien. Monolaurin yang terkandung di dalam VCO dapat menyebabkan kerusakan yang ekstensif pada membran dengan cara merusak protein ekstraseluler, asam nukleat dan menurunkan aktivitas enzim tertentu yang terdapat pada bakteri. Asam-asam lemak terutama asam laurat dapat menghambat enzim yang terlibat pada produksi energi dan pembentukan komponen struktural sehingga pembentukan dinding sel bakteri terganggu (Asriani, 2006).

Selain itu, asam-asam lemak mampu bereaksi dengan enzim dehidrogenase dan akan mengakibatkan hilangnya aktivitas enzim tersebut. Gangguan aktivitas enzim dapat terjadi pada saat bakteri mensintesis asam dihidrofolat dari p-aminobenzoat (Davidson dan Brannen, 1994). Senyawa antibakteri termasuk asam laurat yang terkandung di dalam VCO dapat menghambat sintesis peptidoglikan karena kemampuan dari senyawa tersebut dalam menghambat enzim-enzim yang berperan dalam pembentukan peptidoglikan seperti karboksipeptidase, endopeptidase dan transpeptidase. Jika aktivitas dari enzim-enzim tersebut terganggu maka sifat enzim autolitik sebagai regulator hilang dan enzim tidak mampu mengendalikan aktivitasnya sehingga dinding sel tersebut akan mengalami degradasi (Murray, dkk., 1998).

Asam-asam lemak yang terkandung di dalam VCO dapat mengganggu dan mempengaruhi integritas membran sitoplasma, yang dapat menyebabkan kebocoran materi intraseluler. Asam-asam lemak tersebut dapat mengakibatkan gangguan pada permeabilitas membran, yang ditandai dengan terjadinya peningkatan permeabilitas membran sebagai akibat adanya perubahan komposisi fosfolipid. Kondisi ini menyebabkan monogliserol lebih mudah menembus membran sel dan akhirnya terjadi kebocoran sel, yang diikuti dengan keluarnya materi intraseluler (Asriani, 2006).

b. Uji Daya Hambat Metabolit BAL

Pada pengujian daya hambat metabolit BAL terhadap *S. Thypi*, menunjukkan bahwa pada penelitian ini, metabolit BAL memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan *S. Thypi* sebagaimana yang ditunjukkan pada Tabel 4.1. Metabolit BAL mampu menghambat pertumbuhan *S. Thypi* yang ditunjukkan dengan

terbentuknya zona bening disekitar sumuran sampel dengan rata-rata diameter zona hambat sebesar 11,7 mm, dengan kata lain kemampuan penghambatannya berada pada tingkat intermediet (Mukherjee, 1998).

Kemampuan metabolit BAL dalam menghambat pertumbuhan bakteri sebagian besar karena adanya asam-asam organik yang terkandung di dalamnya. Asam-asam organik yang dihasilkan oleh BAL mengakibatkan akumulasi produk akhir asam dan penurunan pH yang akan menghambat pertumbuhan bakteri baik Gram positif maupun bakteri Gram negatif. Aktivitas asam-asam lipofilik seperti asam laktat dan asetat dalam bentuk tidak terdisosiasi dapat menembus sel mikroba dan pada pH intraseluler yang lebih tinggi, berdisosiasi menghasilkan ion-ion hidrogen dan mengganggu fungsi metabolit esensial seperti translokasi substrat dan fosforilasi oksidatif, dengan demikian mereduksi pH intraseluler (Cabo, dkk., 2002). Hal yang sama juga dinyatakan oleh Jenie, dkk (1996) bahwa efek penghambatan dari asam-asam organik terutama berasal dari jumlah asam yang tidak terdisosiasi. Asam lipofilik seperti asam laktat dan asam asetat dalam bentuk tidak terdisosiasi dapat menembus sel bakteri. Stratford (2000) menyatakan bahwa asam lemah dapat menurunkan pH sitoplasma, mempengaruhi struktur membran dan fluiditasnya serta mengkelat (mengikat) ion-ion dinding sel bakteri. Penurunan pH sitoplasma akan mempengaruhi protein struktural sel, enzim-enzim, asam nukleat dan fosfolipid membran (Davidson dan Brannen, 1994). Selain itu, kemampuan daya hambat yang dimiliki oleh metabolit BAL terhadap pertumbuhan *S. Thypi* juga disebabkan oleh produksi bakteriosin.

Mekanisme penghambatan metabolit BAL terhadap pertumbuhan bakteri selain menyebabkan gangguan terhadap komponen dinding sel, metabolit BAL juga

dapat melakukan penghambatan dengan bereaksi dengan membran sel. Kemampuan metabolit BAL untuk mengganggu komponen penyusun dinding sel yang salah satu fungsinya untuk melindungi membran sitoplasma, menyebabkan sel bakteri peka terhadap osmotik. Adanya tekanan osmotik dalam sel bakteri akan menyebabkan terjadinya lisis. Asam-asam organik yang dihasilkan oleh BAL akan menembus dinding sel dan mengganggu permeabilitas membran. Selain itu setelah berada di dalam sitoplasma akan terdisosiasi menghasilkan proton, dan proton yang berlebihan akan menyebabkan keseimbangan terganggu. Gangguan tersebut berakibat pada berkurangnya energi sel untuk pertumbuhan karena dialihkan untuk menyeimbangkan proton dan juga mengganggu transport asam amino dan gula (Asriani, 2006).

c. Uji Daya Hambat VCO dan Metabolit BAL

Pada pengujian daya hambat gabungan antara VCO dan metabolit BAL terhadap *S. Thypi*, menunjukkan bahwa pada penelitian ini, gabungan antara VCO dan metabolit BAL memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan *S. Thypi* sebagaimana yang ditunjukkan pada Tabel 4.1. Sebagaimana hasil yang diperoleh pada penelitian yang menunjukkan bahwa rata-rata zona hambat yang terbentuk dengan pemberian gabungan antara VCO dan metabolit BAL yaitu 14 mm terhadap *S. Thypi*, sehingga dapat dikatakan bahwa *S. Thypi* bersifat sensitif terhadap gabungan antara VCO dan metabolit BAL karena diameter zona hambat yang terbentuk > 12 mm (Mukherjee, 1998).

Kemampuan daya hambat yang dihasilkan oleh gabungan antara VCO dan metabolit BAL terhadap *S. Thypi* disebabkan karena kemampuan kedua zat tersebut untuk menghambat pertumbuhan *S. Thypi* yang telah diujikan pada penelitian ini yang menunjukkan bahwa kedua macam zat tersebut memiliki kemampuan daya

hambat terhadap *S. Thypi*. Sehingga dengan penggabungan keduanya akan menghasilkan daya hambat yang lebih tinggi. Daya hambat yang dihasilkan oleh kedua zat tersebut berasal dari asam organik (asam lemah) yang terkandung di dalam metabolit BAL yang dapat merusak atau mengganggu kestabilan dinding sel bakteri dan diperkuat oleh asam laurat yang terkandung di dalam VCO yang mampu mempengaruhi membran sel, kondisi ini yang menyebabkan sel lisis dan akhirnya mempercepat kematian sel bakteri (Blaszyk, dkk., 1998).

Selain itu, menurut Davidson dan Brannen (1994) bahwa asam organik dan asam-asam lemak bersama-sama merusak membran dengan memperbesar pori membran, hal ini akan meningkatkan efektivitas dari asam lemak dalam mengganggu aktivitas enzim-enzim terutama yang berperan dalam respirasi akibatnya ATP tidak terbentuk sehingga menyebabkan sel mengalami lisis dan diikuti dengan kematian sel.

Terdapatnya komponen asam organik dan asam lemak, terutama asam laktat dan asam laurat dalam campuran VCO dan metabolit BAL yang bekerja secara sinergi menyebabkan kerusakan membran, kebocoran protein intraseluler dan asam nukleat, serta penurunan aktivitas enzim yang berperan dalam pembentukan material genetik dan proses pembelahan sel. Hal ini sejalan dengan pernyataan Kim, dkk (1995) bahwa salah satu kemampuan dari senyawa antibakteri untuk merusak sel adalah dengan mempengaruhi transfer informasi genetik dengan menghambat aktivitas enzim RNA polimerase dan DNA polimerase. Mekanisme selanjutnya menginaktivasi atau merusak materi genetik yang berimplikasi pada pembelahan sel untuk perkembangbiakan.

Efek sinergi dari asam-asam lemak dari VCO dan asam organik dari metabolit BAL terutama asam laktat disebabkan karena kedua senyawa tersebut memiliki kesamaan dalam sifatnya sebagai antibakteri, yaitu dalam bentuk tidak terdisosiasi, sehingga saling menguatkan untuk berdifusi ke dalam sel, akibatnya pori-pori membran membesar. Sifat antibakteri dari asam-asam lemak ditunjukkan oleh sifatnya yang tidak mudah terdisosiasi dan memiliki gugus yang bersifat lipofilik, sedangkan sifat antibakteri dari asam-asam organik juga disebabkan oleh sifat tidak terdisosiasi yang dapat menurunkan pH sitoplasma. Makin besar pori-pori membran semakin banyak senyawa antibakteri yang masuk ke dalam sitoplasma, sehingga kemampuannya dalam mengganggu aktivitas enzim-enzim yang terdapat pada sitoplasma terutama enzim yang berfungsi dalam pembentukan energi dan transport nutrient lebih besar pula. Akibatnya isi sel keluar dan akhirnya mempercepat kematian sel bakteri. Hal inilah yang menyebabkan penghambatan yang lebih tinggi dari campuran VCO dan metabolit BAL bila dibandingkan dengan penggunaan tunggalnya.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Asriani (2006) dengan mengamati mekanisme kerja dari campuran metabolit *L. plantarum* kik dan monogliserol terhadap *S. Thypimurium* menunjukkan bahwa mekanisme kerja dari campuran kedua zat ini dalam menghambat pertumbuhan *S. Thypimurium* yaitu dengan cara merusak dinding sel yang berlanjut pada kerusakan membran sitoplasma serta menghambat proses pembentukan dan pemisahan septa. Septa dibutuhkan oleh sel untuk memperbanyak diri dengan cara pembelahan sel. Bila proses pembentukan dan pemisahan septa terganggu, maka proses pertumbuhan terhambat. Septa yang tidak normal bila membelah menyebabkan sel berbentuk tidak normal, sebagian berukuran

kecil dan sebagian berukuran besar dan bila konsentrasi senyawa antibakteri ditingkatkan dari 1 MIC menjadi 2 MIC terlihat kerusakan pada permukaan sel yang lebih besar.

2. Uji Daya Hambat VCO, Metabolit BAL, serta VCO dan metabolit BAL terhadap *B. cereus*

Pada penelitian ini dilakukan tiga jenis perlakuan dengan masing-masing tiga kali pengulangan untuk tiap-tiap perlakuan. Dari ketiga pengulangan pada tiap-tiap perlakuan data yang diperoleh bersifat konstan sebagaimana yang ditunjukkan pada Tabel 4.3. sehingga tidak dapat digunakan untuk membuktikan hipotesis yang diajukan karena ketiga senyawa uji yang digunakan yaitu VCO, metabolit BAL maupun gabungan antara keduanya tidak mampu menghambat pertumbuhan *B. cereus*.

a. Uji Daya Hambat VCO

Pada pengujian daya hambat VCO terhadap *B. cereus*, menunjukkan bahwa pada penelitian ini, VCO tidak memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan *B. cereus* sebagaimana yang ditunjukkan pada Tabel 4.3. Berdasarkan teori *B. cereus* yang tergolong ke dalam bakteri Gram positif akan mampu dihambat pertumbuhannya oleh VCO namun pada penelitian ini diperoleh hasil penelitian yang tidak sesuai dengan teori. Faktor yang menyebabkan VCO tidak mampu menghambat pertumbuhan *B. cereus* kemungkinan disebabkan karena pada penelitian ini VCO yang digunakan tidak diesterifikasi karena keterbatasan alat, sebagaimana hasil penelitian yang dilakukan oleh Kato dan Shibasaki pada tahun 1975, seperti yang dikutip oleh Davidson dan Brannen (1983) dalam Asriani

(2006), dilaporkan bahwa ester monoasilgliserol dalam bentuk monolaurin dan monokaprin memiliki daya antibakteri yang kuat terutama terhadap *B. cereus*.

Selain itu kemampuan daya hambat VCO yang rendah terhadap *B. cereus* karena tidak diesterifikasi semakin diperparah dengan produksi enterotoksin oleh *B. cereus*. Sebagaimana penelitian yang dilakukan oleh Spira dan Goepfert (1975) yang membuktikan bahwa enterotoksin diproduksi selama pertumbuhan aktif atau masa logaritmik dari sel dan dilepaskan dari sel ke medium sekitarnya tanpa sel mengalami lisis (Supardi dan Sukanto, 1999: 132-133). Keberadaan enterotoksin ini yang menyebabkan VCO kehilangan efek antibakterinya terhadap *B. cereus*. Hal tersebut disebabkan karena terjadi pembentukan senyawa kompleks antara enterotoksin yang disekresikan oleh *B. cereus* dan monogliserol yang terkandung di dalam VCO yang menyebabkan terjadinya penurunan gugus hidroksil (gugus hidrofilik) dan menurut Kabara, dkk (1994), sifat antimikroba dari asam-asam lemak dan turunannya disebabkan karena adanya gugus hidroksil, sehingga jika terjadi penurunan gugus hidroksil akan menyebabkan kemampuan daya hambat dari VCO akan mengalami penurunan atau bahkan tidak terbentuk efek penghambatan terhadap suatu bakteri. Hal tersebut sesuai dengan yang dikemukakan oleh Endrakasih (2005) yang menyatakan protein bakteri, dalam hal ini adalah enterotoksin yang membentuk kompleks dengan lipid akan menurunkan aktivitas biologisnya sehingga kemampuannya dalam menghambat pertumbuhan bakteri berkurang.

b. Uji Daya Hambat Metabolit BAL

Pada pengujian daya hambat metabolit BAL terhadap *B. cereus*, menunjukkan bahwa pada penelitian ini, metabolit BAL tidak memiliki daya

hambat terhadap pertumbuhan *B. cereus* sebagaimana yang ditunjukkan pada Tabel 4.3. Berdasarkan teori, asam-asam organik yang dihasilkan oleh BAL mengakibatkan akumulasi produk akhir asam dan penurunan pH yang akan menghambat pertumbuhan bakteri baik Gram positif maupun Gram negatif. Namun pada penelitian ini terlihat bahwa metabolit BAL yang sebagian besar adalah asam-asam organik terutama asam laktat karena BAL yang digunakan adalah BAL dari Genus *Streptococcus* yang diisolasi dari usus itik merupakan BAL homofermentatif (Setiawan, 2013), tidak mampu menghambat pertumbuhan *B. cereus* yang merupakan salah satu bakteri Gram positif.

Hal tersebut kemungkinan besar disebabkan oleh faktor lingkungan yaitu pH, di mana pH supernatan yang mendekati nilai netral (7) akan menyebabkan asam-asam organik yang dihasilkan oleh BAL tidak mampu untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Sehingga yang berperan dalam penghambatan ini adalah bakteriosin yang juga merupakan salah satu senyawa antibakteri yang juga terkandung di dalam metabolit BAL. Namun kemampuan bakteriosin untuk menghambat pertumbuhan bakteri bersifat spesifik. Sebagaimana yang dikemukakan oleh Marugg (1991) yang menyatakan bahwa bakteriosin yang diproduksi oleh BAL memiliki aktivitas antimikroba yang spesifik, hal tersebut diperkuat oleh penelitian yang dilakukan oleh Diaz, dkk (1993) yang telah menseleksi 26 galur *L. plantarum* dari fermentasi buah zaitun hijau menyatakan bahwa plantarisin S (bakteriosin) yang dihasilkan oleh *L. plantarum* dapat menghambat *Leu. Mesentroides* tetapi tidak menghambat bakteri *Bacillus* dan *L. monocytogenes*.

c. Uji Daya Hambat VCO dan Metabolit BAL

Pada pengujian daya hambat VCO dan metabolit BAL terhadap *B. cereus*, menunjukkan bahwa pada penelitian ini, campuran antara VCO dan metabolit BAL tidak memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan *B. cereus* sebagaimana yang ditunjukkan pada Tabel 4.3. Hal tersebut disebabkan karena pada penelitian ini, kedua sampel uji yang digunakan yaitu VCO dan metabolit BAL yang digunakan tidak mampu membentuk efek sinergi sebagai antibakteri. Salah satu faktor yang menyebabkan hal tersebut karena pada penggunaan tunggal dari kedua senyawa tersebut tidak mampu menghambat pertumbuhan *B. cereus* sehingga untuk penggunaan gabungan antara keduanya pun tidak akan mampu menghambat pertumbuhan *B. cereus*. Beberapa faktornya yaitu produksi enterotoksin oleh *B. cereus* yang dapat menurunkan gugus hidroksil (gugus hidrofilik) dari VCO sehingga terjadi penurunan kemampuan daya hambat dari VCO, selain itu tidak dilakukannya proses esterifikasi, di mana proses esterifikasi akan menghasilkan efek antibakteri yang lebih tinggi karena monogliserol yang diperoleh melalui proses esterifikasi akan lebih mudah berdifusi menembus dinding sel bakteri. Kemampuan bakteriosin yang bersifat spesifik juga menjadi faktor penyebab sehingga gabungan kedua senyawa uji yang digunakan tidak mampu menghambat pertumbuhan *B. cereus*.

BAB V

PENUTUP

A. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

5. VCO memiliki kemampuan daya hambat terhadap pertumbuhan *S. Thypi* dengan rata-rata diameter zona hambat sebesar 12 mm namun tidak dapat menghambat pertumbuhan *B. cereus*.
6. Metabolit bakteri asam laktat (BAL) memiliki kemampuan daya hambat terhadap pertumbuhan *S. Thypi* dengan rata-rata diameter zona hambat sebesar 11,17 mm namun tidak dapat menghambat pertumbuhan *B. cereus*.
7. VCO yang disuplementasi dengan metabolit bakteri asam laktat (BAL) memiliki kemampuan daya hambat terhadap pertumbuhan *S. Thypi* dengan rata-rata diameter zona hambat sebesar 14 mm namun tidak dapat menghambat pertumbuhan *B. cereus*.
8. Daya hambat VCO ataupun metabolit BAL terhadap pertumbuhan *S. Thypi* lebih tinggi dengan penggabungan antara keduanya bila dibandingkan dengan penggunaan tunggalnya. Namun terhadap pertumbuhan *B. cereus* tidak menunjukkan efek penghambatan baik itu untuk gabungan antara VCO dan metabolit BAL maupun penggunaan tunggal dari kedua zat tersebut.

B. Saran

Perlu dilakukan penelitian yang lebih lanjut mengenai penggunaan VCO dan metabolit BAL sebagai senyawa antimikroba, sehingga diharapkan VCO dan metabolit BAL selain dapat digunakan sebagai senyawa antibakteri juga dapat digunakan sebagai senyawa antifungi. Selain itu dapat pula dilakukan penelitian mengenai pengaruh faktor lingkungan seperti pH dan temperatur (suhu) terhadap kemampuan daya hambat senyawa antibakteri tersebut, sehingga kinerja senyawa tersebut bisa ditingkatkan lagi dan dapat dimanfaatkan sebagai antibiotik alami dengan kualitas yang lebih bagus dibandingkan antibiotik yang selama ini digunakan.

DAFTAR PUSTAKA

- Amanah, Nur. "Identifikasi dan Karakterisasi Substrat Antimikroba dari Bakteri Asam Laktat Kandidat Probiotik yang Diisolasi dari Dadih dan Yoghurt". *Skripsi*. Bogor: Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor, 2011.
- Anonim. *Budidaya Kelapa (Cocos nucifera L)*. <http://www.dekindo.com> (09 Oktober 2013).
- Arif, Al. *Manfaat Minyak Kelapa Murni (Virgin Coconut Oil / VCO dan Peluang Bisnisnya)*. <http://www.minyak-kelapa.com> (09 Oktober 2013).
- Ariyanti, Tati. "Bakteri *Listeria Monocytogenes* sebagai Kontaminan Makanan asal Hewan (*Foodborne Disease*)". *Wartazoa* 20, no 2 (2010): h. 93-101.
- Asriani. "Kajian Efek Sinergi Antimikroba Metabolit Bakteri Asam Laktat dan Monoasilgliserol Minyak Kelapa terhadap Bakteri Patogen". *Skripsi*. Bogor: Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor, 2006.
- Asy'ari, Muhammad dan Bambang Cahyono. "Pra Standarisasi: Produksi dan analisis Minyak *Virgin Coconut Oil* (VCO)". *JSKA IX*. no. 3 (2006): h. 1-9.
- Batovska, Daniela I,dkk. "Antibacterial Study of the Medium Chain Fatty Acids and Their 1-Monoglycerides: Individual Effects and Synergistic Relationships". *Polish Journal of Microbiology* 58, no 1 (2009): h. 43-47.
- Blaszyk M, Holley RA. "Interaction of Monolaurin, Eugenol and Sodium Citrate on Growth of Common Meat Spoilage and Pathogenic Organism" dalam Asriani. *Kajian Efek Sinergi Antimikroba Metabolit Bakteri Asam Laktat dan Monoasilgliserol Minyak Kelapa terhadap Bakteri Patogen*. Bogor: Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor, 2006.
- Bolung, Yoan Y., dkk. *Kajian Mutu Fisik dan Kimia Virgin Coconut Cooking Oil (VCCO) Dari Beberapa Varietas Kelapa (Cocos nucifera L.)*. <http://download.portalgaruda.org> (09 Oktober 2013).
- Brannen, AL dan Davidson PM. "Introduction to Use of Antimicrobials" dalam Asriani. *Kajian Efek Sinergi Antimikroba Metabolit Bakteri Asam Laktat dan Monoasilgliserol Minyak Kelapa terhadap Bakteri Patogen*. Bogor: Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor, 2006.
- Brooks, Geo.F.,dkk. *Mikrobiologi Kesehatan*. Jakarta: Salemba Medika, 2005.
- Cabo, ML., dkk. "Apparent Antifungal Activity of Several Lactid Acid Bacteria Againts *Penicillium Discolor* is Due to Acetit Acid in The Medium" dalam Asriani. *Kajian Efek Sinergi Antimikroba Metabolit Bakteri Asam Laktat dan*

- Monoasilgliserol Minyak Kelapa terhadap Bakteri Patogen*. Bogor: Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor, 2006.
- Campbell, Neil A, dkk. *Biology*, Jilid 1. Terj. Rahayu Lestari, dkk, Biologi. Jakarta: Penerbit Erlangga, 2002.
- , *Biology*, Jilid 2. Terj. Rahayu Lestari, dkk, Biologi. Jakarta: Penerbit Erlangga, 2003.
- Carandang, E.V. "Health Benefits of Virgin Coconut Oil". *Indian Coconut Jurnal* XXXI, no 2 (2008): h. 8-12.
- Cristianti, Laras dan Adi Hendra Prakoso. "Pembuatan Minyak Kelapa Murni (*Virgin Coconut Oil*) Menggunakan Fermentasi Ragi Tempe". *Skripsi*. Surakarta: Fakultas Teknik Universitas Sebelas Maret, 2009.
- Cushnie, T.P.Tim dan Andrew J. Lamb. "Antimicrobial Activity of Flavonoids". *International Journal of Antimicrobial Agents* 26 (2005): h. 343–356.
- Darnawati. 2009. "Keanekaragaman Genetik *Salmonella thypi*". *Jurnal Kesehatan* 2, no. 1: h. 27-33.
- Diaz, RJ.,dkk. "*Plantaricin S and T*, Two New Bacteriocins Produced by *Lactobacillus plantarum* LPC010 Isolated from a Green Olive Fermentation" dalam Asriani. *Kajian Efek Sinergi Antimikroba Metabolit Bakteri Asam Laktat dan Monoasilgliserol Minyak Kelapa terhadap Bakteri Patogen*. Bogor: Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor, 2006.
- Demam, John M. *Kimia Makanan*. Bandung: Penerbit ITB, 1997.
- Departemen Agama RI. *Al Quran Tajwid dan Terjemahnya*. Bandung: Yayasan Penyelenggara Penerjemah/ Penafsir Al Quran, 2009.
- Desniar, dkk. "Senyawa Antimikroba yang Dihasilkan oleh Bakteri Asam Laktat Asal Bekasam". *Jurnal Akuatika* 3, no 2 (2012): h. 135-145.
- Edahwati, Luluk. *Aplikasi Penggunaan Enzym Papain dan Bromelin terhadap Perolehan VCO*. Jakarta: UPN Press, 2011.
- Elfianus, Goniwala. "Teknik Pengolahan *Virgin Coconut Oil* Menggunakan Ragi Tape". *Buletin Teknik Pertanian* 13, no 2 (2008): h. 69-72.
- Entjang, Indan. *Mikrobiologi dan Parasitologi*. Bandung: PT. Citra Aditya Bakti, 2003.
- Fardiaz, S. "Mikrobiologi Pangan" dalam Asriani. *Kajian Efek Sinergi Antimikroba Metabolit Bakteri Asam Laktat dan Monoasilgliserol Minyak Kelapa terhadap Bakteri Patogen*. Bogor: Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor, 2006.

- Frazier, WC dan Westhoff DF. "Food Microbiology" dalam Asriani. *Kajian Efek Sinergi Antimikroba Metabolit Bakteri Asam Laktat dan Monoasilgliserol Minyak Kelapa terhadap Bakteri Patogen*. Bogor: Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor, 2006.
- Gani, Zainal, dkk. *Bebas Segala Penyakit dengan VCO*. Cet. III; Jakarta: Puspa Swara, 2006.
- Garburt, J. "Essentials of Food Microbiology" dalam Asriani. *Kajian Efek Sinergi Antimikroba Metabolit Bakteri Asam Laktat dan Monoasilgliserol Minyak Kelapa terhadap Bakteri Patogen*. Bogor: Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor, 2006.
- Hafsan. *Mikrobiologi Umum*. Makassar: Alauddin University Press, 2011.
- Hanna, Endah Tyasrini dan Hana Ratnawati. "Pengaruh pH terhadap Pertumbuhan *Salmonella thypi* In Vitro". *JKM* 5, no 1 (2005): h. 1-7.
- Hanum, Zuraida. "Kemampuan Susu Fermentasi *Lactobacillus Plantarum* Menghambat *Salmonella Typhymurium* Secara In Vitro". *Agripet* 10, no 2 (2010): h. 34-39.
- Hatmanti, Ariani. "Pengenalan *Bacillus spp*". *Oseana* XXV, no. 1 (2000): h. 31-41.
- Hayati, Rita. "Perbandingan Susunan Dan Kandungan Asam Lemak Kelapa Muda Dan Kelapa Tua (*Cocos Nucifera* L.) Dengan Metode Gas Kromatografi". *Jurnal Floratek* 4 (2009): h. 18-28.
- Hidayat, Nur, dkk. *Mikrobiologi Industri*. Yogyakarta: ANDI, 2006.
- Hutabarat, Vivi Lestari, dkk. "Potensi Bakteriosin Dari Bakteri Asam Laktat Yogurt Sebagai Antibakteri Di Uji Terhadap *Shigella Dysenteriae* Dan *Salmonella Thypi*". *Laporan Hasil Penelitian*. Riau: Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Riau, 2013.
- Irianto, Koes. *Mikrobiologi*, Jilid 2. Cet. II; Bandung: Yrama Widya, 2007.
- , *Mikrobiologi*, Jilid 1. Cet. III; Bandung: Yrama Widya, 2010.
- Jay, JM. "Modern Food Microbiology" dalam Asriani. *Kajian Efek Sinergi Antimikroba Metabolit Bakteri Asam Laktat dan Monoasilgliserol Minyak Kelapa terhadap Bakteri Patogen*. Bogor: Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor, 2006.
- Jenie, BSL., dkk. "Pengembangan Produk Makanan Tradisional Rendah Garam Berbasis Ikan Melalui Aplikasi Bakteri Asam Laktat Penghasil Bakteriosin" dalam Asriani. *Kajian Efek Sinergi Antimikroba Metabolit Bakteri Asam Laktat dan Monoasilgliserol Minyak Kelapa terhadap Bakteri Patogen*. Bogor: Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor, 2006.

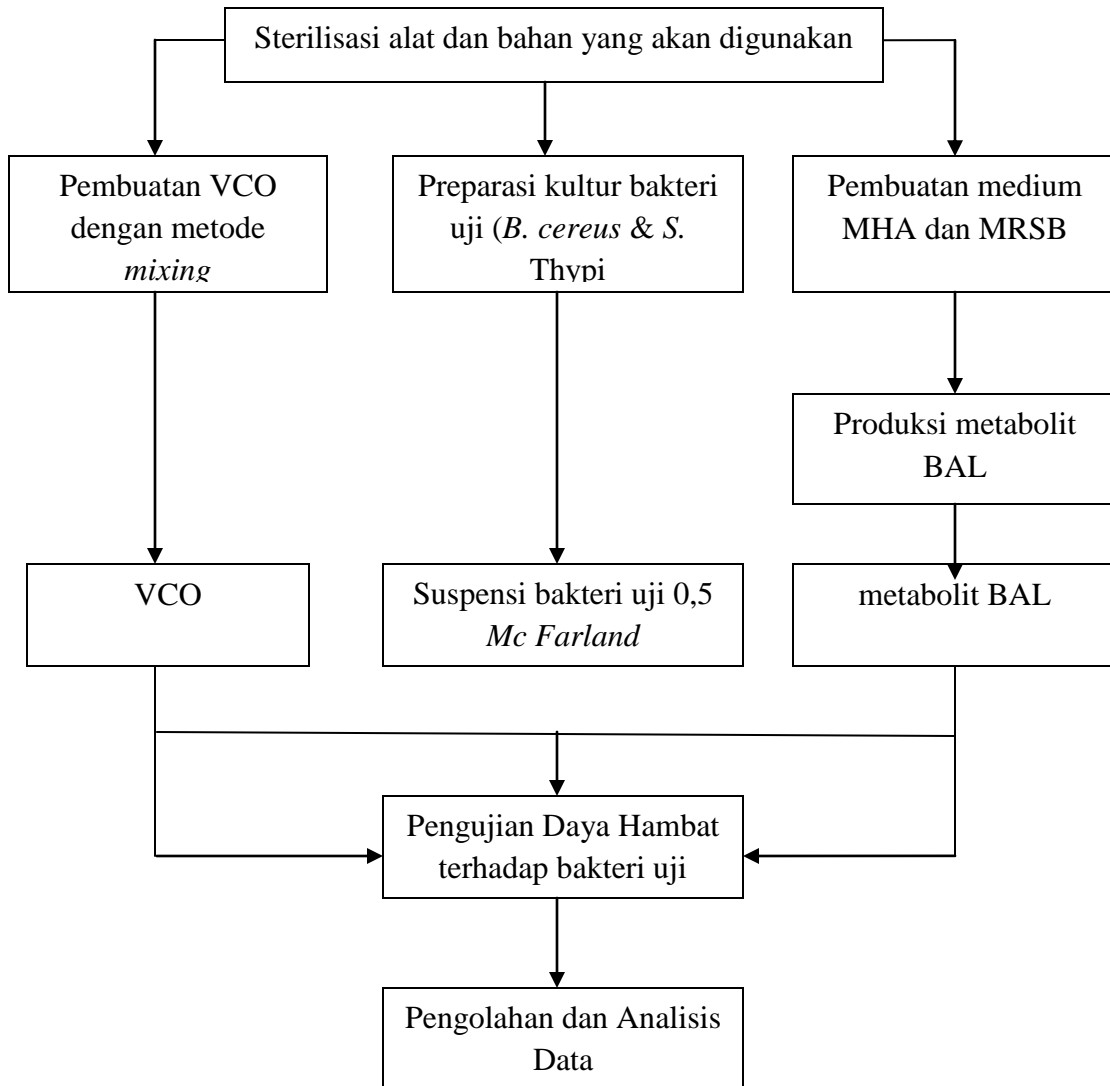
- Ketaren, S. Pengantar Teknologi Minyak dan Lemak Pangan. Jakarta: UI-Press, 2008.
- Kim, JM., dkk. "Antibacterial activity in Extracts of *Camelia japonica* L. Petals and its Application to a Model Food System" dalam Asriani. *Kajian Efek Sinergi Antimikroba Metabolit Bakteri Asam Laktat dan Monoasilgliserol Minyak Kelapa terhadap Bakteri Patogen*. Bogor: Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor, 2006.
- Kusmiati dan Amarila Malik. Aktivitas Bakteriosin Dari Bakteri *Leuconostoc Mesenteroides* Pbac1 Pada Berbagai Media. *Makara, Kesehatan* 6, no. 1 (2002): h. 1-7.
- Kusumawati, Netty. Peranan Bakteri Asam Laktat Dalam Menghambat *Listeria Monocytogenes* Pada Bahan Pangan. *Jurnal Teknologi Pangan dan Gizi* 1, no 1 (2000): h. 14-28.
- Kuswanto, K.R dan Sudarmadji, S. "Proses-proses Mikrobiologi Pangan" dalam Sudiarta, I Wayan. *Isolasi dan Identifikasi terhadap BAL Indigenous pada Fermentasi Kecap Ikan Lemuru*. Bali: Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Udayana, 2010.
- Misgiyarta, S. dan Widowati. "Seleksi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat (BAL) Indigenous" dalam Sudiarta, I Wayan. *Isolasi dan Identifikasi terhadap BAL Indigenous pada Fermentasi Kecap Ikan Lemuru*. Bali: Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Udayana, 2010.
- Mukherjee KL. "Medical Laboratory Tecnology" dalam Dewi, Ratih Kartika. *Daya Hambat Propolis Terhadap Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus Aereus*. Mataram: Politeknik Kesehatan Mataram, 2013.
- Murhadi. "Senyawa Dan Aktivitas Antimikroba Golongan Asam Lemak Dan Esternya Dari Tanaman". *Jurnal Teknologi Industri dan Hasil Pertanian* 14, no. 1 (2009): h. 97-105.
- Murray, PR., dkk. "Medical Microbiology" dalam Asriani. *Kajian Efek Sinergi Antimikroba Metabolit Bakteri Asam Laktat dan Monoasilgliserol Minyak Kelapa terhadap Bakteri Patogen*. Bogor: Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor, 2006.
- Nur, Hasrul Satria. "Pembentukan Asam Organik Oleh Isolat Bakteri Asam Laktat Pada Media Ekstrak Daging Buah Durian (*Durio Zibethinus* Murr.)". *Bioscientiae* 2, no. 1 (2005): h. 15-24.
- Ogbolu, D.O, dkk. "In Vitro Antimicrobial Properties of Coconut Oil on *Candida* Species in Ibadan, Nigeria". *Journal Of Medicinal Food* 10, no 2 (2007): h. 384-387.

- Pelczar, Michael J dan E.C.S. Chan. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*, Jilid 1. Jakarta: UI-Press, 2008.
- , *Dasar-Dasar Mikrobiologi*, Jilid 2. Jakarta: UI-Press, 2009.
- Pitt, WM, dkk. "Behavior of *Listeria monocytogenes* in Pasteurized Milk During Fermentation with *Lactid Acid Bacteria*" dalam Asriani. *Kajian Efek Sinergi Antimikroba Metabolit Bakteri Asam Laktat dan Monoasilgliserol Minyak Kelapa terhadap Bakteri Patogen*. Bogor: Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor, 2006.
- Poedjiadi, Anna dan F.M. Titin Supriyanti. *Dasar-Dasar Biokimia*. Jakarta: UI-Press, 2007.
- Pratiwi, Sylvia T. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Penerbit Erlangga, 2008.
- Ray, B. "Fundamental Food Microbiology" dalam Asriani. *Kajian Efek Sinergi Antimikroba Metabolit Bakteri Asam Laktat dan Monoasilgliserol Minyak Kelapa terhadap Bakteri Patogen*. Bogor: Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor, 2006.
- Rukmana, Rahmat dan Herdi Yudirachman. *Budidaya Kelapa Kopyor*. Semarang: Aneka Ilmu, 2004.
- Rustan, Idha Reskia. "Studi Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat Dari Fermentasi Cabai Rawit (*Capsicum Frutencens* L.)". *Skripsi*. Makassar: Fakultas Pertanian Universitas Hasanuddin, 2013.
- Setiawan, Anas. "Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat dari Usus Itik Pedaging (*Anas domestica*)". *Skripsi*. Makassar: Fakultas Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin, 2013.
- Simanjuntak, Rosnawyta. 2010. Pemanfaatan Bakteri Asam Laktat untuk Menghasilkan Pangan. *Jurnal Badan Ketahanan Pangan* 3, no. 2 (2010): h. 43-49.
- SNI. *Minyak Kelapa Virgin (VCO)*. Jakarta: Badan Standarisasi Nasional, 2008.
- Soeharsono, dkk. *Probiotik*. Bandung: Widya Padjadjaran, 2010.
- Soeka, Yati Sudaryati, dkk. "Analisis Biokimia Minyak Kelapa Hasil Ekstraksi secara Fermentasi". *Biodiversitas* 9, no. 2 (2008): h. 91-95.
- Stratford, M. 2000. Traditional Preservatives-Organic Acids. Di dalam: Asriani. *Kajian Efek Sinergi Antimikroba Metabolit Bakteri Asam Laktat dan Monoasilgliserol Minyak Kelapa terhadap Bakteri Patogen*. Bogor: Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor, 2006.

- Sukartin, Kuncoro dan Maloedyn Sitanggang. *Gempur Penyakit dengan VCO*. Jakarta: Agromedia Pustaka, 2005.
- Sumarsih, Sri, dkk. "Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat Pada *Caecum* Ayam Daging". *Jurnal Kesehatan* 2, no. 1 (2009): h. 1-5.
- Supardi, Imam dan Sukamto. 1999. *Mikrobiologi dalam Pengolahan dan Keamanan Pangan*. Bandung: Penerbit Alumni, 1999.
- Syamsiah. *Buku Ajar Taksonomi Tumbuhan Tinggi*. Makassar: Universitas Negeri Makassar, 2012.
- Tambayong, Jan. *Mikrobiologi Untuk Keperawatan*. Jakarta: Widya Medika, 2000.
- Volk, Wesley A. dan Margaret F. Wheeler. *Mikrobiologi Dasar*. Jakarta: Erlangga, 1993.
- Wardoyo, Dwi Yogo. "Karakteristik Mikrobiologis Dendeng Sapi Gilingdan Iris Yang Difermentasi Dengan *Lactobacillus plantarum* 1B1". *Skripsi*. Bogor: Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor, 2008.
- Wibowo, Susilo. *VCO dan Pencegahan Komplikasi Diabetes*. Jakarta: Pawon Publishing, 2005.
- Widiandani, Tri, dkk. "Upaya Peningkatan Kualitas Minyak Kelapa Yang Dibuat dari *Cocos nucifera* L Dengan Berbagai Metode Kimiawi Dan Fisik". *Laporan Hasil Penelitian*. Surabaya: Departemen Kimia Farmasi, Fak. Farmasi Universitas Airlangga, 2010.
- Widiasih, Triani. "Aktivitas Substrat Antimikroba Bakteri Asam Laktat Yang Diisolasi Dari Daging Sapi Terhadap Bakteri Patogen Dan Konsentrasi Minimum Penghambatannya". *Skripsi*. Bogor: Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor, 2008.
- Yuliana, Neti. "Kinetika Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat Isolat T5 Yang Berasal Dari Tempoyak". *Jurnal Teknologi Industri dan Hasil Pertanian* 13, no. 2 (2008): h. 108-116.
- Zareian, Mohsen, dkk. Modeling of Glutamic Acid Production by *Lactobacillus plantarum* MNZ. *Electronic Journal of Biotechnology* 16, no. 4 (2013).
- Zuhud, Evrizal. A.M, dkk. Aktivitas Antimikroba Ekstrak Kedawung (*Parkia roxburghii* G. Don) terhadap Bakteri Patogen. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan* XII, no 1 (2001): h. 6-12.

LAMPIRAN

Lampiran I: Diagram Penelitian



Lampiran II: Komposisi medium MHA dan MRSB

1. Medium MHA

Adapun komposisi medium MHA yaitu sebagai berikut:

Bahan	Jumlah (gr/L)
Beff dehydrate infusion	300
Casein hydrolisat	17,5
Starch	1,5
Agar	17

2. Medium MRSB

Adapun komposisi medium MHA yaitu sebagai berikut:

Bahan	Jumlah (gr/L)
Peptone casein	10
Ekstrak yeast	4
Ekstrak beef	8
Glukosa	20
Tween 80	1 mL
$K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$	2
$CH_3COONa \cdot 3H_2O$	5
$NH_4H_2PO_4$	2
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0,2
$MnSO_4$	0,05

Lampiran III: Dokumentasi Penelitian

a. Pembuatan VCO



(1)



(2)



(3)



(4)



(5)



(6)

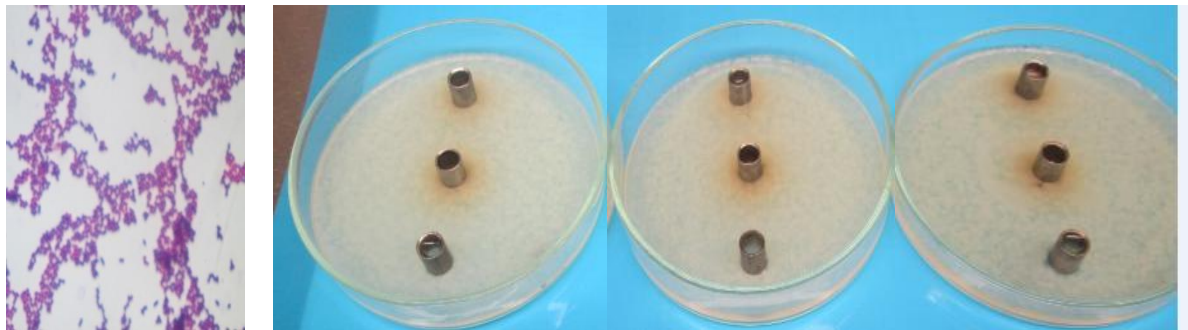


(6)

Keterangan:

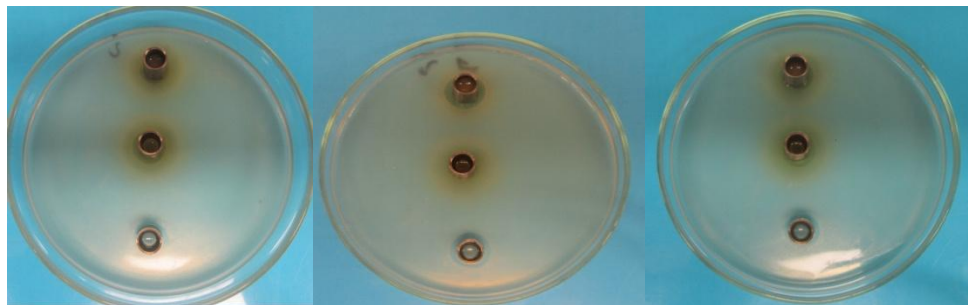
1. Kelapa yang digunakan untuk membuat VCO
2. Hasil parutan kelapa
3. Santan yang diperoleh dari hasil perasan kelapa
4. Proses *mixing*
5. Hasil mixer sebelum dan setelah didiamkan selama 1 x 24 jam
6. Proses pemisahan minyak dari air dan blondo

b. Pengujian daya hambat



(1)

(2)



(3)

Keterangan:

1. Hasil pewarnaan Gram BAL yang digunakan
2. Hasil pengujian daya hambat sampel uji terhadap *B. cereus*
3. Hasil pengujian daya hambat sampel uji terhadap *S. Thypi*

Lampiran IV: Analisis Data

a. Hasil ANOVA

ANOVA					
Daya Hambat					
Perbedaan	Jumlah Kuadrat	db	Kuadrat Tengah	F	P
Antar Perlakuan	12.722	2	6.361	6.189	.035
Inter Perlakuan	6.167	6	1.028		
Total	18.889	8			

b. Homogenous Subsets

Daya Hambat

Tukey HSD

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
BAL	3	11.167	
VCO	3	12.000	12.000
BAL + VCO	3		14.000
Sig.		.600	.114

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

c. *Post Hoc Test*

Multiple Comparisons

Daya Hambat
Tukey HSD

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
BAL	+ BAL	2.8333*	.8278	.033	.294	5.373
VCO	VCO	2.0000	.8278	.114	-.540	4.540
BAL	BAL +	-2.8333*	.8278	.033	-5.373	-.294
	VCO	-.8333	.8278	.600	-3.373	1.706
VCO	BAL +	-2.0000	.8278	.114	-4.540	.540
	VCO	.8333	.8278	.600	-1.706	3.373

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

DAFTAR RIWAYAT HIDUP



Devi Armita lahir di Selayar, pada tanggal 16 Agustus 1992. Penulis merupakan anak pertama dari dua bersaudara dari pasangan Ayahanda Demmanyuraki, S.E dan Ibunda Siti Nur Hayati. Jalur pendidikan formal yang pernah ditempuh penulis adalah sebagai berikut:

1. Taman Kanak-Kanak (TK) Pertiwi pada tahun 1996-1998.
2. Sekolah Dasar (SD) Unggulan Centre Benteng II pada tahun 1998-2004.
3. Sekolah Menengah Pertama (SMP) Negeri II Benteng pada tahun 2004-2007.
4. Sekolah Menengah Atas (SMA) Negeri I Benteng pada tahun 2007-2010.
5. Pada tahun 2010, penulis diterima di Perguruan Tinggi Negeri Universitas Islam Negeri (UIN) Alauddin Makassar, Program Strata Satu (S1) dan tercatat sebagai mahasiswa Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Alauddin Makassar, melalui jalur Ujian Masuk Lokal (UML)

Selama menempuh pendidikan di jenjang S1, penulis pernah menjadi pengurus Himpunan Mahasiswa Jurusan (HMJ) Biologi pada tahun 2011-2012. Selain itu, penulis juga aktif mengikuti seminar-seminar baik di tingkat jurusan, fakultas, maupun universitas. Penulis juga pernah mengikuti Olimpiade Sains Nasional (OSN) Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (MIPA) pada tahun 2013.